Böhm u. Oppel

Taschenbuch der mikroskopischen Technik

Achte Auflage

Verlag R. Oldenbourg München u. Berlin

OTTO HARRASSOWITZ
BUCHHANDLUNG

MBL/WHOI
0 0301 0010341 2

QH 207
R79
1919

TASCHENBUCH

der

Mikroskopischen Technik.

Anleitung

zur mikroskopischen Untersuchung der Gewebe und Organe der Wirbeltiere und des Menschen

unter Berücksichtigung der embryologischen Technik.

Von

Alexander Böhm und **Albert Oppel.**

Mit einem Beitrag (Rekonstruktionsmethoden) von Gustav BORN.

Achte völlig umgearbeitete und erweiterte Auflage

von

Dr. Benno Romeis

Privatdozent in München

München und **Berlin.**

Druck und Verlag von R. Oldenbourg.

1919.

Alle Rechte, einschließlich des Übersetzungsrechtes, vorbehalten.
Copyright 1919 by R. Oldenbourg, Munich.

Dem Andenken von

Alexander Böhm

gewidmet.

Vorwort.

Zu Beginn möchte ich vor allem in Dankbarkeit meines verehrten Lehrers Dr. Alexander Boehm gedenken, dessen Erinnerung ich diese 8. Auflage des Taschenbuches widme.

Als wenige Jahre nach ihm auch seinen früheren Mitarbeiter, Professor Dr. Oppel, der Tod ereilte, wurde mir der ehrende Auftrag zu Teil, eine Neuauflage des Buches zu übernehmen. Möge es mir geglückt sein, das Werk meines Lehrers in seinem Sinne fortzuführen.

Die Fortschritte der mikroskopischen Technik machten eine Erweiterung des Inhalts nötig, wenn anders das Taschenbuch seiner Aufgabe Aufschluß über die wichtigsten und gebräuchlichsten Methoden zu geben, gerecht werden sollte. Dadurch wie durch das Bestreben die Übersichtlichkeit des Buches zu steigern, wurde eine eingreifende Umarbeitung nötig.

Das Ergebnis dieser Arbeit dürfte schon bei einem Vergleich des Inhaltsverzeichnisses der 7. und 8. Auflage hervortreten. So wurde eine Reihe von Abschnitten wie über die *Untersuchung der Plastosomen*, *des Golgischen Binnenapparates, der Pigmente*, *der innersekretorischen Organe*, ferner über den *Nachweis von Fermenten, von anorganischen Substanzen* u. a. neu aufgenommen. Andere wie jene über *das Mikroskop*, *die Fixierung*, *die Einbettungs- und Schneidetechnik*, *die Färbung, die Untersuchung des lebenden Präparates*, *der Fette und Lipoide des Blutes*, *des*

Bindegewebes usw. wurden wesentlich umgeändert und erweitert.

Nur der seinerzeit von G. Born geschriebene Teil über Rekonstruktion blieb, abgesehen von der Einfügung kleinerer Ergänzungen, im wesentlichen unverändert. Der von Oppel der 7. Auflage beigefügte Abschnitt über experimentelle, entwicklungsmechanische Technik konnte leider nicht mehr aufgenommen werden, da er — auf den Stand des heutigen Wissens gebracht — den Umfang des Buches zu sehr vergrößert hätte.

Den praktischen Gebrauch des Taschenbuches suchte ich durch eine beträchtliche Vergrößerung des Sachregisters zu erleichtern, wofür allerdings eine Verkleinerung der Schrifttypen in Kauf genommen werden muß. Die bereits in früheren Auflagen enthaltene Verdünnungstabelle für Alkohol und eine neuangefertigte Tabelle über die Zusammensetzung der gebräuchlichsten Fixierungsflüssigkeiten wurden gesondert beigeheftet, um allenfalls ein Herausnehmen und Anschlagen der Tabellen am Arbeitstisch zu ermöglichen.

Vielleicht ist es durch diese Verbesserungen geglückt, dem Buche trotz der widrigen Zeitverhältnisse, die auch die starke Preiserhöhung verschuldet haben, seinen bisherigen Platz zu behaupten.

München, im September 1919.

Benno Romeis.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Allgemeiner Teil 1—132

1. Kapitel. **Das Mikroskop und die optischen Nebenapparate** . . . . . 1—10

2. » **Die Herstellung und Untersuchung frischer Präparate** . . . . . 10—17

3. » **Das lebende Präparat** . . . . . 17—22

4. » **Fixation für allgemeine Zwecke** . . . . . 22—46

a) Allgemeines über die Fixierung. . . . 22
b) Nachbehandlung nach der Fixierung . . 28
c) Zusammenstellung verschiedener Fixierungsflüssigkeiten für allgemeine Zwecke 30

5. » **Durchtränkung und Einbettung** . . . . . 46—62

A. Paraffineinbettung 48
a) Durchtränken mit dem Intermedium 48
b) Übertragen des Objektes in das Paraffin 51
c) Das Einbetten 53
B. Zelloidineinbettung 55
C. Gelatineeinbettung 59
D. Aufblocken des Objektes 61

6. » **Das Mikrotom** . . . . . 62—70

Das Gefriermikrotom 68

7. » **Das Aufkleben der Schnitte** . . . . . 70—79

A. Allgemeine Bemerkungen 70
B. Aufkleben von Paraffinschnitten . . . 71
α) Methoden mit Wasser 71
β) Methoden mit Eiweiß 73
γ) Besondere Aufklebemethoden . . . 75
C. Aufkleben der Zelloidinschnitte 77
D. Aufkleben der Gefrierschnitte. 79

8. » **Die Weiterbehandlung aufgeklebter und unaufgeklebter Schnitte** . . . . . 79—84

29765

Seite

A. Paraffinschnitte 79
B. Zelloidinschnitte 82
C. Gefrierschnitte 83

9. Kapitel. **Die Färbung** . . . . . **84—113**
A. Allgemeines 84
B. Methoden 88
1. Karmin 88
2. Hämatoxylin 90
3. Anilinfarben 97
a) Allgemeines 97
b) Kernfärbung mit basischen Anilinfarben 101
c) Mehrfachfärbung 103

10. » **Vitale Färbung** . . . . . **114—118**

11. » **Das Einschließen der Präparate** . . . . **118—123**

12. » **Rekonstruktionsmethoden** von G. Born mit Ergänzungen . . . . . **123—132**

Spezieller Teil . . . . . 133—358

13. Kapitel. **Die Untersuchung der Zelle und ihrer Bestandteile** . . . . . **133—164**
A. Untersuchung des Zellkernes 133
B. Zentrosom und Sphäre, Protoplasma 136
C. Darstellung der Plastosomen (Mitochondrien, Chondriosomen) 138
1. Fixierungsmethoden 138
2. Bleichung 140
3. Färbungsmethoden 140
D. Die Darstellung des Golgischen Binnenapparates 143
E. Nachweis von Fett- und Lipoidsubstanzen 145
1. Neutralfette 145
2. Fettsäuren 148
3. Cholesterin und Verbindungen desselben 148
4. Lipoide 149
F. Nachweis von Glykogen 150
G. Nachweis von Fermenten 152
H. Die Untersuchung der Pigmente . . . 155
Allgemeines 155
Melanophoren 158
Allophoren 159
Lipophoren 160
Guanophoren 161

Seite

I. Nachweis organischer Substanzen . . 161
a) Eisen 161
b) Kalium 163
c) Calcium 163

14. Kapitel. **Epithelien und Endothelien** . . . . . 165—169

15. » **Die Untersuchung des Blutes** . . . . . 170—190

A. Das Ausstrichpräparat 170
1. Die Blutentnahme 170
2. Untersuchung des frischen Präparates 170
a) Rote Blutkörperchen. 170
b) Weiße Blutzellen 172
c) Blutplättchen 172
3. Herstellung des Ausstrichpräparates 173
4. Fixierung des Ausstrichpräparates . 174
a) Fixierung des lufttrockenen Ausstriches 174
b) Fixierung des feuchten Ausstriches 174
5. Die Färbung des Ausstrichpräparates 176
Allgemeine Bemerkungen 176
Spezielle Methoden 177
B. Herstellung von Schittpräparaten . . 182
C. Darstellung von Fibrin 185
D. Verschiedenes (Zählung usw.) 187

16. Kapitel. **Bindegewebe**. . . . . 190—208

A. Untersuchung des frischen Präparates. 190
1. Kollagenes Bindegewebe 190
2. Elastisches Gewebe. 192
B. Untersuchung des Bindegewebes mit Hilfe der Verdauungsmethoden. . . 194
C. Färbungsmethoden 197
a) Färbung des kollagenen Gewebes . 197
b) Färbung des elastischen Gewebes . 207

17. Kapitel. **Knorpel** . . . . . 209—212

18. » **Knochen und Zähne** . . . . . 212—224
Allgemeine Bemerkungen 212
Entkalkungsflüssigkeiten 213
1. Entkalkung 212
2. Färbemethoden entkalkter Knochen und Zähne 215
3. Die Untersuchung von unentkalkten Knochen und Zähnen 220

19. » **Muskelgewebe** . . . . . 224—231
a) Quergestreifte Muskulatur 224
b) Glatte Muskulatur 230

Seite

20. Kapitel. **Die Untersuchung des Nervensystemes 231—273**
A. Zentralnervensystem 231
1. Allgemeines. 231
2. Untersuchung der Ganglienzelle . . . 232
a) Isolierung 232
b) Kern und Tigroidsubstanz 233
c) Darstellung der Plastosomen und Neurosomen 236
d) Darstellung des Golgischen Binnenapparates 236
e) Darstellung der Ganglienzelle mit ihren Fortsätzen 237
f) Darstellung der Neurofibrillen . . . 241
3. Darstellung der markhaltigen Fasern 249
α) Die Weigertsche Markscheidenfärbung 249
β) Modifikationen der Weigertschen Methoden 251
γ) Weitere Methoden für Markscheidenfärbung 253
4. Darstellung der Neuroglia 257
B. Peripheres Nervensystem 262
Darstellung der Nervenendigungen . . . 266
1. Die vitale Methylenblaufärbung . . . 267
2. Vergoldungsmethoden 271
3. Silberimprägnation 273

21. » **Herz, Blut- und Lymphgefäße. Injektionsmethoden . . . . . 274—280**
Injektionsmethoden 276

22. » **Lymphdrüsen, Milz und Knochenmark 280—284**

23. » **Darm und Drüsen . . . . . 284—295**
Darstellung der Schleim- und Eiweißdrüsen 291
Untersuchung des Pankreas 293

24. » **Leber . . . . . 295—298**
Darstellung der Gallenwege 296
a) Durch Injektion 296
b) Durch Imprägnation 296
c) Durch Färbung 297

25. » **Atmungsorgane . . . . . 299—300**

26. » **Niere und Harnwege . . . . . 301—303**

27. » **Geschlechtsorgane . . . . . 303—311**
1. Weibliche Geschlechtsorgane 373
2. Männliche Geschlechtsorgane 300

Seite

28. Kapitel. **Innersekretorische Organe** . . . . . **311—316**
Thyreoidea, Hypophysis 311
Epiphysis 312
Parathyreoidea, Thymus, Keimdrüsen . 313
Nebenniere und chromaffines Gewebe . . 314

29. » **Untersuchung von Haut, Haaren, Nägeln und sensiblen Nervenendigungen der Haut 316—324**
Epithelfibrillen 319
Corium und Subkatis 319
Haare 321

30. » **Auge** . . . . . **324—332**

31. » **Gehörorgan** . . . . . **333—336**

32. » **Nase** . . . . . **336—337**

32. » **Embryologische Technik** . . . . . **337—358**
A. Wirbellose 337
B. Wirbeltiere 340
a) Neunaugen 340
b) Fische 341
c) Amphibien 343
d) Reptilien 347
e) Vögel 350
f) Säugetiere 354

Literaturverzeichnis 359

Autorenregister 402

Sachregister 407

Druckfehlerberichtigung 438

Allgemeiner Teil.

1. Kapitel. **Das Mikroskop und die optischen Nebenapparate.**

1. Eine ausführliche Beschreibung des Mikroskopes und seiner Nebenapparate liegt außerhalb des Rahmens dieses Buches. Wenn trotzdem in diesem einleitenden Kapitel hierüber einige Bemerkungen folgen, so geschieht dies einerseits, um den Anfänger mit den üblichen Fachausdrücken bekannt zu machen und anderseits, um ihn auf die gebräuchlichsten der vorhandenen Hilfsmittel hinzuweisen.

2. Zur Erzielung schwacher Vergrößerungen bedient man sich der **Lupen,** insbesondere wenn aufrechte, nicht seitenverkehrte Bilder erzeugt werden sollen, wie es z. B. bei gleichzeitigem Präparieren u. dgl. erwünscht ist. Neben den seit langem bekannten einfachen und zusammengesetzten Lupen, welche teils in einfacher Fassung als Handlupen, teils, auf Stativen montiert, als Stativlupen benützt werden, sind seit mehreren Jahren zwei vorzügliche neue Konstruktionen von Zeiß in Gebrauch: die **binokulare Lupe** und die **Fernrohrlupe.** Die erstere gibt ihrer Konstruktion entsprechend von dem betrachteten Gegenstand ein plastisches Bild und kommt für 0,75 bis 3fache Vergrößerung in Frage. Sie kann durch ein Stirnband vor den Augen befestigt werden, so daß die Hände zum Arbeiten frei bleiben.

3. Bei der **Fernrohrlupe** wird ein großer Nachteil der einfachen Lupen, nämlich der bei stärkerer Vergrößerung nur sehr geringe Objektabstand beseitigt. (Vergrößerungsmöglichkeit: 0,75—20fach, monokular bis 28,5fach).

Diese Lupe ist in monokularer wie binokularer Konstruktion in Gebrauch. Die große Brennweite der Fernrohrlupe (z. B. bei 6facher Vergrößerung 33 cm, bei 20facher noch 10 cm) ermöglicht z. B. auch ein Beobachten lebender Tiere in größeren Aquarien oder ein Betrachten tiefer gelegener Organe bei Operationen usw.

4. Zur Erzielung stärkerer Vergrößerungen genügen die Lupen nicht mehr. Dazu dient heutzutage, entgegen dem Brauche früherer Jahrhunderte, das »zusammengesetzte« Mikroskop, das im Gegensatze zum »einfachen« Mikroskop, der Lupe, seitenverkehrte Bilder liefert, so daß also die rechte Seite im Lichtbild links, die obere dagegen unten erscheint. An einem zusammengesetzten Mikroskop unterscheidet man zwischen **Optik** und **Stativ.** Die **Stativsäule,** welche mittels einer U-förmigen, möglichst stabilen **Fußplatte** auf dem Mikroskopiertische fest aufstehen muß, trägt, von unten nach oben gezählt: 1. den **Spiegel,** 2. den **Objekttisch** und 3. den **Tubus.**

5. Die eine Seite des drehbaren Spiegels ist meist konkav, die andere plan. Die Beleuchtung durch den Hohlspiegel ist im allgemeinen intensiver als bei Verwendung des Planspiegels. Bei künstlichem Licht arbeitet man bei schwacher Vergrößerung mit dem Planspiegel, bei starker mit dem Hohlspiegel. Ist dagegen zwischen Spiegel und Objekt ein Kondensor eingeschaltet, so benützt man besser den Planspiegel. Nur bei geringer Entfernung der Lichtquelle ist auch hier der Hohlspiegel vorzuziehen.

6. Der **Objekttisch,** auf den das zu betrachtende Objekt aufgelegt wird, besitzt in der Mitte eine mehr oder weniger große Öffnung, welche durch **Blendenvorrichtungen** verengert werden kann. Bei den neueren Instrumenten findet man meistens die schon von photographischen Apparaten her allgemein bekannte **Irisblende.** Einfachere Instrumente haben dafür vielfach eine **Revolverblende,** eine exzentrisch zur Objekttischöffnung angebrachte, drehbare Scheibe mit verschieden großen Blendenlöchern.

7. Bei Untersuchung ungefärbter oder fein stukturierter Objekte muß gewöhnlich stark abgeblendet werden, um die Einzelheiten scharf hervortreten zu lassen. Bei starker Vergrößerung können unter Umständen zur Abhaltung störender Randstrahlen engere Blenden notwendig sein wie bei schwacher Vergrößerung.

8. Der Objekttisch kann bei größeren Instrumenten durch zwei seitlich angebrachte Stellschrauben nach allen Richtungen verschoben und dadurch zentriert werden. Um das genaue Verschieben der Präparate zu erleichtern, gibt es auch eigene, auf den Objekttisch aufzusetzende **„Kreuztische“,** deren Gebrauch sehr angenehm ist. Mit Hilfe ihrer Noniuseinteilungen läßt sich jede beliebige Stelle eines Präparates später wieder genau auffinden. Vor Gebrauch muß der Kreuztisch in diesem Falle mit

Hilfe des jedem Kreuztisch beigegebenen Fadenkreuzobjektträgers und der seitlichen Objekttischstellschrauben genau zentriert werden.

9. Der **Tubus** kann bei jedem Mikroskop neuerer Konstruktion durch ein großes zu beiden Seiten der Stativsäule angebrachtes Triebschraubenpaar gehoben und gesenkt werden. Zur feinen Einstellung dient noch eine besondere **Mikrometerschraube** an der Seite oder am oberen Ende der Stativsäule. An ihr befindet sich meist eine Meßtrommel, mit deren Hilfe sich die Schnittdicke bestimmen läßt.

10. Am unteren Ende des Tubus wird das **Objektiv** angebracht. Die mühelose Auswechselung verschiedener Objektive wird entweder durch eine Drehvorrichtung (Objektivrevolver) oder durch eine Schlittenkonstruktion (Objektivschlitten) ermöglicht. Jedes Objektivsystem besteht aus einer Kombination mehrerer Linsen. Die dem Präparat zugekehrte kleinste Linse heißt Frontlinse. Am oberen Ende des Tubus wird das **Okular** eingesetzt, eine kurze Röhre, in welche oben und unten Linsen eingeschraubt sind: die obere, dem Auge zugekehrte nennt man die Okularlinse, die untere die Kollektivlinse.

11. Als **Achromate** werden Objektive bezeichnet, deren sphärische und chromatische Aberration nicht völlig korrigiert ist. Eine Verbesserung stellen die **Fluoritsysteme** dar. Die beste Korrektion ist bei den dementsprechend auch sehr teuren **Apochromaten** erreicht, zu denen man am besten auch eigens konstruierte Okulare, sog. **Kompensationsokulare** benützt.

12. Die starken Trockensysteme sind auf eine ganz bestimmte Deckglasdicke korrigiert (meist 0,17 mm). Um die Objektive ohne Beeinträchtigung der Bildschärfe auch bei dicken Deckgläsern benützen zu können, werden sie auch in sog. Korrektionsfassungen hergestellt, bei welchen ein Verstellen des Frontlinsenabstandes möglich ist. Auch durch Verstellen des fernrohrartig ausziehbaren Tubus, der Tubuslänge, lassen sich Unterschiede in der Dicke des Deckglases ausgleichen.

13. Je stärker das Bild im Mikroskop vergrößert wird, desto lichtschwächer wird es. Um diesem Übelstande abzuhelfen, hat man **Beleuchtungsapparate** konstruiert (Kondensoren, Abbescher Beleuchtungsapparat), welche zwischen Spiegel und Objektivtischunterseite eingeschaltet werden und für feinere Untersuchungen unentbehrlich sind. Durch Heben und Senken des Beleuch-

tungsapparates (meist mittels einer Triebschraube) läßt sich die Intensität der Beleuchtung je nach Bedarf steigern oder abschwächen. Eine weitere Regulierung läßt sich durch Abblendung der Randstrahlen mit Hilfe der im Kondensor angebrachten Irisblende erzielen; die Abblendung empfiehlt sich insbesondere bei Beobachtung feiner Strukturen. Will man dagegen nur Farben sehen, z. B. gefärbte Bakterien, und dabei auf die Erkennung etwas oder ungefärbter Strukturen verzichten, so lasse man das Licht voll einwirken. Das Maximum an Lichtstärke erzielt man dadurch, daß man zwischen Frontlinse des Kondensors und Objektträgerunterfläche einen Öltropfen einschaltet (Immersionskondensor).

14. Eine weitere Steigerung der Leistungsfähigkeit des Mikroskopes wird dadurch erzielt, daß man zwischen Präparat und Frontlinse des Objektivsystems eine Flüssigkeitsschicht einschaltet, die annähernd das gleiche optische Verhalten hat wie Glas. Dadurch wird die Ablenkung der Lichtstrahlen, die bei Anwendung von »Trockensystemen« durch die zwischen Präparat und Objektiv befindliche Luftschicht eintritt, beinahe völlig ausgeschaltet. Die für diese Zwecke eigens konstruierten Objektive bezeichnet man als **„Tauch- oder Immersionslinsen“.** Für gewöhnlich verwendet man die »homogenen oder Öl-Immersionen«, bei denen eingedicktes Zedernöl als Zwischenflüssigkeit dient (Immersionsöl). Sie sind für alle feineren Untersuchungen unentbehrlich geworden. Auch bei diesen Linsen unterscheidet man je nach dem Grade ihrer Korrektion zwischen Achromaten, Fluoritsystemen und Apochromaten, welch letztere zur Zeit die besten Objektive darstellen.

Neuerdings hat Winkel eine billige, achromatische Immersionslinse (Hom. Imm. 2,2 mm) in den Handel gebracht, die sich bei etwas geringerer Eigenvergrößerung als die gewöhnliche $^1/_{12}$ Immersion durch sehr ebenes, großes Gesichtsfeld, Lichtstärke und großen Objektabstand auszeichnet. Ebenso Zeiß (Hom. Imm. 1,7 mm).

15. Für spezielle Zwecke (z. B. zur Untersuchung von Präparaten während der Färbung feinster Zellstrukturen) sind auch Immersionssysteme konstruiert worden, bei welchen Wasser als Zwischenflüssigkeit dient (Wasserimmersionen).

16. Eine weitere Steigerung des Auflösungsvermögens wurde in jüngster Zeit durch die mikrophotographischen Apparate für ultraviolettes Licht von Zeiß erreicht, bei welchen sämtliche Linsen aus Quarz bestehen, so daß hier auch

die von gewöhnlichen Glaslinsen absorbierten ultravioletten Strahlen noch ausgenützt werden können, allerdings nicht durch direkte Beobachtung, sondern nur durch Mikrophotographie (vgl. Koehler).

17. Nicht zu verwechseln mit dieser die ultravioletten Strahlen ausnützenden Konstruktion, durch welche formgleiche Bilder erzeugt werden, sind die Apparate, welche zur Untersuchung kleinster ultramikroskopischer Teilchen dienen **(Dunkelfeldbeleuchtung).** Bei ihnen entstehen nur Diffraktionsbilder, welche über die wahre Gestalt der betreffenden Teilchen nur sehr wenig aussagen. Für histologische Untersuchungen ist am besten der Paraboloidkondensor zu verwenden; für Untersuchung von Flüssigkeiten empfiehlt sich der Kardiodkondensor. In einfacher Weise läßt sich eine Dunkelfeldbeleuchtung durch Einlegen einer sog. Zentralblende in den Blendenträger eines Abbeschen Beleuchtungsapparates erzielen.

18. Anwendungsweise der Dunkelfeldbeleuchtung. Man gibt auf die Frontlinse des Kondensors einen Tropfen Immersionsöl oder etwas (möglichst staubfreies) destilliertes Wasser. Dann schiebt man ihn soweit in die Höhe, bis die Flüssigkeit die Unterfläche des Objektträgers berührt und sich hier in dünner Schicht ausbreitet. Dabei sind Luftblasen unbedingt zu vermeiden. Objektträger und Deckgläser müssen schlierenfrei und peinlichst gereinigt sein, da schon das kleinste Staubkörnchen einen Zerstreuungskreis erzeugt. Sie dürfen eine gewisse Dicke (1,0—1,1 mm bzw. 0,1—0,17 mm) nicht überschreiten. Zur Dunkelfeldbeleuchtung konnten bisher nur Trockensysteme benützt werden; bei den stärker vergrößernden Objektivsystemen müssen kleine Blendenzylinder eingesetzt werden. Neuerdings bringt Zeiß auch eine ausgezeichnete Apochromat-Immersion für Dunkelfeldbeleuchtung in den Handel. Zur Beleuchtung bedarf man einer sehr intensiven Lichtquelle (Nernstmikroskopierlampe, kleine Bogenlampe oder Halbwattlampe), diffuses Tageslicht reicht nicht aus. Bei richtiger Technik bekommt man blendend helle Strukturen auf tiefschwarzem Grunde. (Eingehende Darstellungen bei Gebhard 98b, Siedentopf 08, 09 u. a., Gaidukow, Szigmondy u. a.)

19. Die Untersuchung der Doppelbrechung (Anisotropie) histologischer Objekte ermöglichen **Polarisationsapparate,** die aus einem unter dem Objekttisch in den Blendenträger des Kondensors einhängbaren Polarisator und einem am Okular angebrachten Analysator bestehen.

20. Zum Gebrauch stellt man unter möglichster Ausschaltung von Seitenlicht zunächst beide Nikols parallel, so daß das Gesichtsfeld gleichmäßig hell beleuchtet ist.

Sodann dreht man den Analysator um 90°, wodurch das Gesichtsfeld maximal verdunkelt erscheint. Doppelbrechende Elemente leuchten dagegen hell auf. Dreht man jetzt den Objekttisch im Kreise um 360°, so wiederholt sich das Aufleuchten der doppelbrechenden Strukturen viermal. Bleibt das Präparat nach jeder 90gradigen Drehung dunkel, so ist die Abwesenheit doppelbrechender Substanzen wahrscheinlich. Eine etwaige auf diese Weise schwer erkennbare Doppelbrechung läßt sich durch Einlegen von Glimmer- oder Gipsplättchen in den Polarisator verstärken. Genaueres über die dabei entstehenden Farben der Additions- und Subtraktionslage usw., ferner über die Fehlerquellen siehe bei Weinschenk, ferner Ambronn.

21. Die hauptsächlich für schwächere Vergrößerungen konstruierten **binokularen Mikroskope** geben aufrechte, seitenrichtige plastische Bilder. Diese Eigenschaften machen sie besonders für entwicklungs-mechanische, experimentelle und präparatorische Zwecke äußerst empfehlenswert. Braus-Drühner und P. Mayer haben dazu sehr zweckmäßige Stative konstruiert. Um am gewöhnlichen, monokularen Mikroskop eine binokulare, stereoskopische Beobachtung zu ermöglichen, konstruierte Abbe ein stereoskopisches Okular. Von Leitz wird neuerdings ein mit einem Objektiv versehenes binokulares Mikroskop geliefert, das für viele Zwecke (z. B. Beobachtung von lebenden ungefärbten Gewebekulturen, von Faserstrukturen usw.) Ausgezeichnetes leistet, s. darüber Gentzsch-Wetzlar 13.

22. Für mikrospektroskopische Untersuchungen gibt es eigene Spektralokulare. Näheres siehe Enzyklopädie.

23. Die **Beleuchtung** erfolgt für gewöhnlich am besten durch diffuses Tageslicht, niemals aber durch direktes Sonnenlicht. Durch geeignete Anordnung läßt sich das Tageslicht vollkommen ersetzen, ja für Arbeiten bei starker Vergrößerung ist gutes künstliches Licht meist vorzuziehen. Ist die Lichtquelle reich an gelben Strahlen, wie z. B. Gasglühlicht oder elektrisches Licht, so schaltet man dieselben durch Einlegen der jedem Mikroskop beigegebenen Blauglasscheibe in den Blendenträger des Kondensors aus. Vielfach verwendet man dazu und zur gleichzeitigen Konzentrierung der Lichtstrahlen auch eine Schusterkugel, die mit einer Filterflüssigkeit (s. § 24) gefüllt ist. Sehr leistungsfähig sind die Mikroskopierglühlampen (Gas oder elektrisch) sowie die Nernstmikroskopierlampe von Zeiß, bei welchen die Lichtstrahlen durch eine Schusterkugel oder einen Kondensor gesammelt wer-

den und zudem alles störende Nebenlicht abgehalten wird. Bei allen punkt- oder strichförmigen Lichtquellen muß eine Mattglasscheibe zwischengeschaltet werden (am besten durch Einlegen in den Blendenträger).

24. Filterflüssigkeiten. a) Kupferoxydammoniakfilter: Man fügt zu 40 ccm Ammoniak 12 Tropfen einer 20% mit etwas Schwefelsäure angesäuerten Kupfersulfatlösung, schüttelt, bis sich der zuerst entstandene Niederschlag völlig gelöst hat, und füllt mit destilliertem Wasser auf 300 ccm auf.

b) Achromatisches Lichtfilter für Gasglühlicht: Man löst 0,1 g Anilinblau, wasserlöslich, in 400 ccm destilliertem Wasser. 4,5 ccm dieser Lösung werden mit 7 ccm einer 20% mit etwas Schwefelsäure angesäuerten Kupfersulfatlösung gemischt und das ganze mit destilliertem Wasser auf 300 ccm aufgefüllt. Zusatz von etwas Thymol gegen Schimmel. Für elektrisches Licht erhöht man die Menge der Kupfersulfatlösung auf 9 ccm und vermindert die Anilinblaulösung auf 3 ccm.

25. Für besondere Zwecke dient die Quarzquecksilberlampe von Koehler (Zeiß). Bei Vorschalten eines grünen Didymnitratfilters sehen z. B. rotgefärbte Strukturen schwarz aus, was für die Sichtbarmachung feinster Strukturteile oft wertvoll ist. (Koehler 10).

26. Zur Erleichterung der zeichnerischen Wiedergabe eines Präparates gibt es verschiedene **Zeichenapparate.** Der gebräuchlichste dürfte das Abbesche Zeichenprisma von Zeiß sein. Das Bild des Präparates wird bei ihm durch zwei Prismen und einen an einem seitlichen Hebelarm angebrachten Spiegel auf die Zeichenfläche geworfen. Dadurch wird es ermöglicht, die Konturen der mikroskopischen Bilder bei gleichzeitiger Beobachtung von Präparat und Bleistiftspitze mechanisch nachzufahren. Beleuchtungsunterschiede werden durch Vorschalten von Rauchgläsern ausgeglichen. Die Zeichenfläche befindet sich am besten in Objekttischhöhe. Nicht Normalsichtige müssen ihr Augenglas beim Zeichnen benützen. Sehr bequem ist die Benützung eines verstellbaren Zeichentisches. Der Apparat kann auf jedes Mikroskop aufgesetzt werden.

27. Sehr empfehlenswert, aber teuer und umfangreich ist der von Edinger konstruierte Projektionszeichenapparat, der dank seiner Konstruktion gleichzeitig auch für Mikroprojektion verwendet werden kann. (Hergestellt von Leitz, Winkel und Zeiß.)

28. Zum **Messen** der Größe der Objekte dienen für gewöhnlich **Objektiv-** oder **Okularmikrometer.** Das erstere ist ein Objektträger, auf dem ein Millimeter in 100 Teile

geteilt ist. Um die Vergrößerung zu bestimmen, kann man sich eine Anzahl der Intervalle eines Objektmikrometers mit Hilfe eines der genannten Zeichenapparate in Objekttischhöhe abzeichnen und diese dann mit Hilfe eines gewöhnlichen Maßstabes ausmessen. Zeichnet man dann bei gleicher Linsenkombination, Tubuslänge und Tischhöhe die Umrisse eines Präparates, so lassen sich diese mit Hilfe der ermittelten Vergrößerungszahl ebenfalls leicht ausmessen.

29. Beim **Okularmikrometer** befindet sich das Meßplättchen im Okular. Man muß hier mittels eines Objektmikrometers für jede Vergrößerung zunächst feststellen, wie viele Teilstriche des Okularmikrometers auf ein bestimmtes Intervall des Objektivmikrometers gehen und kann dann daraus die Vergrößerung errechnen.

Am besten ist ein Meßokular mit verstellbarer Okularlinse. Das Meßplättchen wird so eingelegt, daß die Fläche mit der Teilung nach unten sieht. (Nur bei Seibert umgekehrt.)

30. Eine neue, leicht sichtbare Mikrometerteilung hat Gebhardt (07) angegeben. Sie besteht statt der Teilstriche aus kleinen, schwarzen und roten Quadraten. Benützt man bei der Messung Apochromatobjektive und ein als Meßokular eingerichtetes Kompensationsokular 6, so gleicht ein Intervall des Okularmikrometers bei normaler Tubuslänge (= 160 mm) ungefähr so vielen Mikra (ein Mikron = 0,001 mm), als die Brennweite des benützten Objektives beträgt. Die Brennweite ist jeweils auf der Fassung des betreffenden Objektives angegeben. (Also z. B. bei Apochromat 4 mm ist ein Intervall des Okularmikrometers = 4 μ, bei Apochromat 8 mm = 8 μ, bei Apochromat 16 mm = 16 μ.) (Wegen weiterer Angaben über Messung vgl. Enzyklopädie.)

31. Eine Vereinfachung des Messens läßt sich auch mit Hilfe des Stufenmikrometers von Leitz erzielen. Man vgl. dazu auch die von der Firma gegebene Anleitung und Metz 12.

32. Bezüglich Mikrophotographie sei auf die Lehrbücher und Spezialarbeiten von Neuhauß (07), Kaiserling (10), Gebhardt (97, 98a, 99a u. b), Wychgram (11) u. a., sowie auf die Gebrauchsanleitungen der einzelnen Firmen (besonders von Zeiß, Druckschrift Mikro 320, 264, 233, 279, 272, 314, 250) verwiesen.

33. Über die Benutzung des Mikroskops. (Anleitung für den Anfänger).

a) Man stellt das Mikroskop auf einen feststehenden Tisch, der durch das nahe Fenster gleichmäßiges, helles Licht erhält. Die Stativsäule ist dem Beobachter zugewendet

und bleibt in dieser Stellung stehen. Ein etwa vorhandener Beleuchtungsapparat wird zunächst entfernt.

b) An das untere Ende des Tubus bringt man vorerst das **schwächste** Objektiv und senkt den Tubus unter **seitlicher** Beobachtung so weit, bis die Frontlinse des Objektivs etwa 0,5 cm vom Objektivtisch entfernt ist. Dann drehe man den Spiegel so lange hin und her, bis man beim Hineinsehen in den Tubus, in dem zunächst noch kein Okular steckt, ein möglichst helles Lichtbild erblickt. Nun wird das schwächste Okular eingesetzt. Man muß ein völlig gleichmäßig beleuchtetes, helles Gesichtsfeld vorfinden.

c) Jetzt legt man den Objektträger derart auf den Objekttisch, daß das Präparat, das für den Anfang möglichst groß gewählt wird, in die Mitte des Objekttischloches zu liegen kommt (Deckglas nach oben!).

Dann blickt man durch das Okular und **hebt** gleichzeitig den Tubus durch langsames Zurückschrauben der Triebschraube so weit, bis plötzlich ein deutliches Bild erscheint, das nunmehr mit Hilfe der **Mikrometerschraube** scharf eingestellt wird. Von jetzt ab bleibt während des Beobachtens die eine Hand stets an der Mikrometerschraube. Denn da das Bild stets nur in einer bestimmten Ebene scharf eingestellt ist, der Schnitt aber infolge seiner Dicke zahllose derartige Ebenen besitzt, so muß man bald höher, bald tiefer einstellen, um seine Struktur ganz zu durchmustern. Das geschieht dadurch, daß man während des Sehens die Mikrometerschraube von Zeit zu Zeit um ein geringes nach beiden Richtungen abwechselnd dreht. Die Mikrometerschraube läuft bei längerem Gebrauch, wenn nach einer Seite mehr als nach der anderen gedreht wird, zu Ende und muß dann wieder in eine mittlere Stellung zurückgedreht werden.

d) Jede Beobachtung beginne man mit schwacher Vergrößerung. Will man dann ein stärkeres Objektiv einstellen, ist zu beachten, daß der Abstand der Frontlinie vom Deckglas umso geringer ist, je stärker das Objektiv vergrößert. Auch hier dreht man wieder zunächst unter seitlicher Beobachtung den Tubus zunächst nach abwärts, bis die Frontlinse dicht über dem Deckglas steht, sieht dann in das Mikroskop und dreht nun die Schraube vorsichtig und langsam zurück. Ist etwas sichtbar geworden, so folgt feine Einstellung mit der Mikrometerschraube. Das Einstellen mit starkem Objektiv

erfordert größte Vorsicht. Dreht man zu tief nach abwärts, so kann Deckgläschen und Präparat, da es sich hier nur um Bruchteile eines Millimeters handelt, sehr leicht zerdrückt werden. Auch eine Beschädigung der Linse ist möglich.

e) Hat man das Einstellen genügend geübt, so studiere man die Wirkung der Blendvorrichtungen und schließlich des Beleuchtungsapparates. Man gewöhne sich von Anfang an, beim Mikroskopieren beide Augen offen zu halten.

f) Bei Benützung eines Immersionssystems bringe man auf die zu beobachtende Stelle des Objektträgers einen kleinen Tropfen Immersionsöl und senke nun den Tubus unter seitlicher Beobachtung so lange, bis die Frontlinse in den Öltropfen taucht. Dabei muß das Entstehen von Luftblasen vermieden werden. Die weitere Einstellung erfolgt durch Senken des Tubus mittels der Mikrometerschraube unter Beobachtung des Gesichtsfeldes. Nach Gebrauch ist Deckglas wie Linse mittels eines mit Chloroform oder Toluol leicht angefeuchteten, sehr weichen Läppchens zu reinigen (Vorsicht, da Chloroform oder Toloul unter Umständen die Verkittung der Linsen zu lösen vermag). Selbstverständlich ist das Mikroskop stets peinlich sauber zu halten.

34. Bemerkung über die Anschaffung eines Mikroskops. Man schaffe sich gegebenenfalls zunächst lieber weniger Objektive an, dafür aber ein gutes, mittleres oder großes Stativ, an dem sich später ein voller Abbescher Beleuchtungsapparat und ein Kreuztisch anbringen läßt. Für den Anfang genügt ein schwaches und ein starkes achromatisches Objektiv (z. B. A und E von Zeiß, 3 und 7 von Winkel oder Leitz, II und V von Seibert) sowie ein schwaches und ein stärkeres Okular (z. B. Nr. 1 u. 3). Als Immersion kommt für gewöhnlich die achromatische homogene Immersion $^1/_{12}$ in Betracht. Besonders empfohlen sei die nur um geringes teuerere, sehr leistungsfähige neue Fluoritimmersion von Zeiß.

Genaueres über das Mikroskop in den Werken von Ambronn, Apathy, Dippel, Garten, Petri, Scheffer, A. Zimmermann, ferner in den Arbeiten von Siedentopf (08a u. b, 09, 12, 15).

2. Kapitel. Die Herstellung und Untersuchung frischer Präparate.

35. Als Unterlage für mikroskopische Präparate dienen **Objektträger** aus Glas von 76:26 mm Seitenlänge

(sog. englisches Format). Man nehme nur solche aus reinem, weißen, schlierenfreien und nicht zu dicken Glas. Trübe Objektträger weise man zurück. Geschliffene Ränder sind unnötig.

36. Zum Bedecken der Präparate dienen **Deckgläschen,** 0,1—0,2 mm dicke Glasplättchen; (bei Benützung von Immersionssystemen wähle man möglichst dünne Deckgläschen!). Eine Größe von 18—20 qmm ist für gewöhnlich hinreichend; für große Präparate und Serienschnitte sind entsprechend größere nötig. Bei umfangreichen Serien ist es erheblich billiger, Deckgläser aus Glimmer (Marienglas) zu verwenden, doch eignen sich derartig eingedeckte Präparate weniger gut zur Betrachtung mit starken Immersionssystemen.

37. Um Objektträger oder Deckgläser vom Hüttenrauch zu reinigen, legt man sie 2—3 Tage in konzentrierte Salpetersäure und spült dann sorgfältig mit fließendem Wasser ab. Für gebrauchte Objektträger und Deckgläser, die mit Farbe, Kanadabalsam usw. beschmutzt sind, benützt man die von Zettnow angegebene Flüssigkeit. Man löst dazu 100 g Kaliumbichromat unter Erwärmen in 1000 ccm Wasser und tropft unter Abkühlen und Rühren vorsichtig 100 ccm konzentrierte rohe Schwefelsäure zu. Die zu reinigenden Gläser bleiben 1—3 Tage in dieser Flüssigkeit, werden dann mit Wasser abgespült, in verdünnte Natron- oder Kalilauge getauscht und über Nacht in fließendem Wasser gut ausgewaschen. Sodann legt man sie in 96% Alkohol und trocknet sie vor Gebrauch sorgfältig ab, wobei man es vermeidet, ihre Fläche mit der Fingerbeere zu berühren.

38. Mit Kanadabalsam aufgeklebte Deckgläschen entfernt man vorher durch Erwärmen über der Flamme, wobei der Balsam schmilzt und das Deckglas leicht abgezogen werden kann.

39. Aufbewahren. Die gereinigten Objektträger hebt man zur völligen Entfettung zweckmäßig in einer mit eingeschliffenem Deckel versehenen Glasdose auf, die mit einer Mischung aus absol. Alkohol, Benzin und Chloroform oder Benzol zu gleichen Teilen gefüllt ist. Kurz vor Gebrauch trocknet man sich eine entsprechende Anzahl von Objektträgern mit einem Leintuch ab.

40. Narkose. Stammen die zur Untersuchung kommenden Präparate von größeren Organismen, so ist es bei schmerzhaften Eingriffen in den weitaus meisten Fällen möglich und angezeigt, die Tiere vor der Entnahme der Teilstücke zu betäuben oder zu töten. Luftatmer narkotisiert man dazu zweckmäßig mit Chloroform oder Äther,

indem man die Tiere z. B. mit einem chloroformgetränkten Wattebausch unter eine Glasglocke od. dgl. bringt und das Exzitationsstadium abwartet. Soll das Tier nicht getötet werden, dann nimmt man es gleich nach diesem Stadium wieder heraus und läßt es vorsichtig Äther einatmen, indem man zeitweise über das Maul ein Becher- oder Wasserglas hält, in welchem ein ätherbefeuchteter Wattebausch liegt. Durch vorausgehende Morphiuminjektion (z. B. 1—3 ccm einer 2%-Lösung von Morph. hydrochlor. bei einem mittelgroßen Hund) läßt sich das Erregungsstadium abschwächen. Wasseratmer bringt man in Wasser, das vorher mit etwas Chloroform oder Äther geschüttelt wurde. Bei vorsichtiger Dosierung und Benützung von reinem Narkose-Äther oder Chloroform lassen sich auch die kleinsten Tiere ohne nachfolgende Schädigung narkotisieren. Nach beendigter Narkose muß man sie natürlich wieder in frische Luft bzw. sauerstoffhaltiges Wasser bringen.

41. Für größere Tiere gibt es entsprechende Operationsbretter. Für kleine Tiere benützt man zweckmäßig mit Wachs ausgegossene Glasschalen, in die dem Körper entsprechende Mulden eingedrückt werden. Zum Festhalten dienen dünne bogenförmige oder gerade Silberdrahtstücke, Glasnadeln od. dgl. (siehe auch Born, Spemann).

42. Kleine Tiere kann man durch rasches Kopfabschneiden töten unter Zerstörung von Gehirn und Rückenmark mittels einer Nadel, größere Tiere durch starken Schlag auf den Hinterkopf. Ein humanes Tötungsmittel ist nach Krause (11) Kohlensäure, die aus der Kohlensäurebombe mittels eines Schlauches in eine Glasglocke geleitet wird. Wassertiere kann man auch in einem mit ausgekochtem Wasser vollgefüllten und oben zugedeckten Gefäß durch Ersticken töten.

43. Mit Curare läßt sich je nach der Dosierung kürzer oder länger dauernde Bewegungslosigkeit erzielen. Man verwendet eine 0,5% Lösung in Glyzerinwasser, die man entweder dem Tiere injiziert oder, bei Wassertieren dem Wasser zusetzt.

44. Hunde, Kaninchen usw. lassen sich vor der Operation sehr leicht mit einem aus Schwefelkalzium (50,0), kohlensaurem Kalk (20,0) und Talkum (30,0) bestehendem Pulver enthaaren; man rührt das Pulver mit etwas Wasser zu einem dicken Brei an, feuchtet die Haare mit Wasser gut an und streicht den Brei mit einem Holzspatel auf das Fell. Nach wenigen Minuten lassen sich diese Haare mit dem Spatel einfach wegstreichen. Zu lange Einwirkung greift die Haut an.

Genähte Operationswunden bestreicht man bei Säugetieren am besten mit etwas Kollod. elastic. oder mit Masticol und klebt etwas Watte oder Kompressenstoff darüber.

45. Mit dem Tode des Tieres ist in vielen Fällen das Leben der einzelnen Zellen noch nicht erloschen. Bringt man dieselben daher in entsprechende Umgebung, so können sie noch kürzere oder längere Zeit am Leben erhalten werden. Je nach dem Lebenszustand spricht man daher von einem frischen Präparat, einem überlebenden Präparat oder einer Gewebekultur (vgl. Kapitel 2 und 3).

46. Bei der mikroskopischen Untersuchung **frischer Präparate** ist eine während der Beobachtung eintretende Austrocknung peinlichst zu vermeiden. Dies geschieht durch Zusatz sog. indifferenter Lösungen, die in der Regel den zu untersuchenden Elementen isotonisch sind, ohne daß sie jedoch im strengen Sinne des Wortes indifferent wären. Am besten ist dazu natürlich der dem gleichen Tiere entstammende Gewebesaft.

47. Als weitere **indifferente Zusatzflüssigkeiten** werden Humor aqueus, Amniosflüssigkeit, filtriertes Hühnereiweiß, Blutserum usw. gebraucht. Das letztere gewinnt man am besten durch Zentrifugieren von frisch und steril entnommenem Blut.

48. Als Ersatz dieser oft schwierig zu beschaffenden Flüssigkeiten verwendet man verschiedene einfache Lösungen. Am gebräuchlichsten ist die **physiologische Kochsalzlösung** deren Salzgehalt je nach der Tierart etwas schwankt, Bei Warmblütern wird meist 0,9% genommen. Für Salamander wird eine 0,8%, beim Frosch eine 0,64%-Lösung empfohlen.

49. Statt Kochsalz kann man auch andere Salze, z. B. 0,03% Kalziumchloridlösung zur Herstellung isotonischer Lösungen verwenden (Deetjen 04).

50. Für feine Untersuchungen ist die **Ringersche** Lösung (Locke 01, Kuliabko 02, Michailow 10) vorzuziehen. Zusammensetzung: Natriumchlorid (NaCl) 0,9; Kaliumchlorid (KCl) 0,02; Natriumkarbonat ($NaHCO_3$) 0,02; Kalziumchlorid ($CaCl_2$) 0,02; Aqua dest. 100,0. (Dazu allenfalls noch 0,001—0,25% [Levis] Dextrose.) Die Lösung ist nicht sehr lange unverändert haltbar und wird daher am besten frisch hergestellt. Durch Kochen zersetzt sie sich.

Erwähnenswert sind noch folgende Flüssigkeiten:

51. Jodserum nach M. Schultze (64): Amniosflüssigkeit wird bis zur Sättigung mit Jod versetzt; (ein Gewichtsteil Jod löst sich in 7000 Teilen Wasser).

52. Die **Kroneckersche** Flüssigkeit besteht aus Natriumchlorid 6,0; Natriumkarbonat 0,06; destilliertes Wasser 1000,0.

53. Während dünne, durchsichtige, flach ausgebreitete Gewebeteile, wie Mesenterium, Omentum mancher Tiere, Knorpelplättchen, Haare, dünne Blutgefäße oder Nerven, abgeschabte Zellen (z. B. Epithelien der Mundhöhle), Spermatozoën, gewisse Eiarten und ähnliches ohne weitere Zerkleinerung der mikroskopischen Untersuchung unterworfen werden können, müssen die meisten Organe zu dem Zweck erst zerkleinert werden.

54. Dazu zerschneidet man die betreffenden Organe mit scharfem Messer oder Schere in kleine Stückchen, die dann auf dem Objektträger in einem Tropfen einer indifferenten Flüssigkeit meist mit Hilfe von Zupfnadeln weiter zerkleinert werden.

Die Nadeln müssen sehr spitz sein und dürfen an ihrer Spitze keinen Widerhaken besitzen. Von Zeit zu Zeit müssen sie auf Sandpapier oder einem Sandstein wieder zugeschliffen werden. Handelt es sich um ein Objekt, welches in der Längsrichtung gefasert werden soll, so setzt man die eine Nadel an einer Stelle des Stückes auf und zerfasert mit der anderen, indem man diese senkrecht zum Faserverlauf des Präparates bewegt. Man nehme beim Zupfen den Flüssigkeitstropfen nicht zu groß.

55. Einige Gewebe sind so konsistent, daß man von ihnen mit einem Rasiermesser dünne, durchsichtige Lamellen herunterschneiden kann. Sehr weiche Gewebe müssen durch Einlegen in Alkohol, Formol oder Müllersche Lösung gehärtet werden. (Vgl. § 105.) Das **Schneiden mit dem Rasiermesser** erfordert große Übung, um gute Resultate zu geben.

Dabei beachte man folgende Punkte: das erste Erfordernis ist ein gutes, sehr scharfes, schartenfreies Messer. Das Stück, welches geschnitten werden soll, fasse man fest mit Daumen, Zeige- und Mittelfinger der linken Hand und stütze die Hand auf die Tischplatte fest auf. Sind die Präparate klein und schwer zu halten, so klemme man sie zwischen Hollundermark oder in Alkohol gehärtete Leberstückchen; man schneide gegen sich (nicht von sich). Man schneide stets ziehend, nicht drückend, so daß bei jedem Schnitt möglichst die ganze Schneide des Messers durch das Präparat in wagrechter Richtung hindurchgezogen wird. Um

ein Ankleben des Schnittes an der Messerklinge zu verhindern, schneide man feuchte Objekte etwas feucht, d. h. man benetze vor jedem Schnitt Messerklinge und Präparatoberfläche mit einer entsprechenden Flüssigkeit. Zuerst lerne man kleine, aber möglichst dünne Schnitte machen, dann erst größere. Die Schnitte spült man durch Eintauchen des Messers in eine entsprechende Flüssigkeit ab. Nach dem Gebrauch wische man das Rasiermesser sorgfältig trocken, um eine Beschädigung von Schneide und Politur durch Rost zu vermeiden.

56. Schleifen und Abziehen des Messers lernt man leichter und besser durch das Sehen. Man benützt zum Abziehen Ölsteine und Streichriemen. Das Abziehen des Messers auf dem Stein erfolgt in der Weise, daß man die Oberfläche des Ölsteines (am besten eines sog. Arkansasölsteines) gut mit feinem Knochenöl benetzt und nun das flach aufgelegte Messer ohne Druck mit der Schneide voraus über den ganzen Stein hinzieht, indem man allmählich während eines Zuges die ganze Länge der Messerschneide mit dem Stein in Berührung kommen läßt, zuerst die dem Griff nahe Partie, dann die Spitze. Nun wende man das Messer über den Rücken und verfahre zurück ebenso wie mit der anderen Seite usw. Sodann wischt man das Öl ab und zieht das Messer noch einigemale auf dem Streichriemen ab, nunmehr aber nicht wie beim Stein mit der Schneide, sondern mit dem Rücken voran. Die Streichriemen zeigen meist 4 Abziehseiten; die Steinseite ist gewöhnlich unbrauchbar. Die rotgefärbte Lederseite ist mit grobkörnigem Schmirgel bestrichen, die schwarze mit feinkörnigem, die vierte besteht aus feinem Leder. Man befolge beim Abziehen die genannte Reihenfolge. Von Zeit zu Zeit reinige man die geschmirgelten Lederstreifen, indem man sie mit etwas Butter abreibt und die gereinigte Lederfläche wieder mit einem erbsengroßen Stück der betr. käuflichen Schmirgelmasse, am einfachsten mit Hilfe des Bauches einer glattwandigen runden Arzneiflasche, fest einreibt.

57. Für manche Zwecke benützt man zum Schneiden ein sog. **Doppelmesser.** Dasselbe besteht aus zwei parallel gestellten übereinanderliegenden Messerklingen, deren Schneiden durch eine Schraube sich mehr oder weniger genähert werden können. Geschnitten wird, indem man mit dem benetzten Doppelmesser rasch ziehend ein Organ, z. B. frische Leber, durchschneidet. Dasselbe zerfällt in zwei Teile und eine zwischen beiden Klingen befindliche Scheibe. Diese entnimmt man, indem man die Klingen durch Lösen der Schraube (ev. Aufklappen der einen Klinge) unter geeigneter Flüssigkeit voneinander entfernt.

58. Das fertige Zupf- oder Schnittpräparat bedeckt man mit einem Deckglas, wobei man nach Möglich-

keit das Auftreten von Luftblasen vermeiden muß. Dabei ist die Größe der Flüssigkeitstropfen von Wichtigkeit. Ist derselbe zu groß, so werden gerade die feinsten Elemente des Präparates unter dem Deckglas herausgeschwemmt; ist er zu klein, so kommt es zur Bildung von Luftblasen, die sich im mikroskopischen Bild als schwarzumrandete Kugeln und Kreise störend bemerkbar machen.

59. Bei empfindlichen Präparaten bringt man, um eine Zerquetschung derselben durch das aufgelegte Deckglas zu vermeiden, an den 4 Ecken desselben kleine **Wachsfüßchen** an, indem man mit jeder Ecke leicht über etwas weiches Wachs streicht. Man kann dazu gewöhnliches Bienenwachs benützen, besser ist sog. Klebwachs. Herstellung desselben: Man verrührt geschmolzenes Wachs (2 Gew.-Teile) auf dem Wasserbad mit venetianischem Terpentin (1 Gew.-Teil) und läßt die Mischung erkalten.

60. Bringt man an derartig hergestellten Präparaten an die eine Kante des Deckglases mittels einer fein ausgezogenen Pipette etwas Flüssigkeit, an die gegenüberliegende Kante aber einen Streifen Filtrierpapier von der Breite des Deckglases, so saugt das Filtrierpapier die unter dem Deckglas befindliche Flüssigkeit ab, wodurch gleichzeitig die an der gegenüberliegenden Kante neu zugesetzte Flüssigkeit nachgezogen wird. Man kann auf diese Weise jede beliebige Flüssigkeit durch das Präparat leiten und den Einfluß derselben auf das beobachtete Objekt studieren.

61. Bei längerer Beobachtung eines frischen oder überlebenden Präparates in einer indifferenten Flüssigkeit ist ein Verdunsten der Zusatzflüssigkeit nach Möglichkeit zu vermeiden, da dadurch Konzentrationsänderungen des Mediums eintreten, welche osmotische Störungen hervorrufen. Man kann dies vermeiden durch Herstellung einer sog. **feuchten Kammer.** Bei kleinen Objekten bedient man sich dazu meist eines hohl geschliffenen Objektträgers, an dessen Oberfläche in der Mitte eine mehr oder weniger tiefe Kugelkalotte eingeschliffen ist. Legt man dann über die Aushöhlung ein etwas größeres Deckglas, an dessen Unterfläche das zu untersuchende Präparat in einem Flüssigkeitstropfen hängt, und dichtet man die Ränder des Deckglases sodann mit Vaseline, Öl, Wachs oder Paraffin ab, so sättigt sich der kleine Hohlraum alsbald soweit mit Feuchtigkeit, daß eine weitere Verdunstung vermieden wird. Beim Auflegen des Deckglases ist zu

vermeiden, daß der Flüssigkeitstropfen den Boden oder die Ränder der feuchten Kammer berührt.

62. Auch durch Auflegen eines kleinen Glasringes auf einen gewöhnlichen Objektträger, Darüberlegen eines Deckglases und entsprechende Abdichtung läßt sich eine feuchte Kammer herstellen. Bei größerem Rauminhalt ist auf den Boden der Kammer etwas Flüssigkeit zu geben, um eine zu starke Konzentration der Beobachtungsflüssigkeit infolge Verdunstung zu vermeiden. Eine größere feuchte Kammer kann man sich aus jeder gutschließenden Glasdose herstellen, auf deren Boden man angefeuchtetes Filtrierpapier oder gutgewaschenen nassen Sand bringt.

3. Kapitel. **Das lebende Präparat.**

63. Frische Präparate, zu deren Anfertigung und Untersuchung im vorausgehenden Kapitel angeleitet wurde, sind nicht immer als lebend zu betrachten. Erst die Feststellung von Lebensäußerungen wie z. B. von Assimilation, Selbstbewegung, Selbstteilung und insbesondere von Wachstum berechtigt zu dieser Annahme. Kleine, selbständige Lebewesen, wie Protozoen, kleine Embryonen und Larven usw. lassen sich selbstverständlich ohne weiteres in einem geeigneten Medium (ev. in kleinen Gefäßen, Mikroaquarien) unter das Mikroskop bringen und, soweit es ihre Durchsichtigkeit erlaubt, in ihren Lebensäußerungen beobachten.

64. Ferner kann man bei einigen Tieren z. B. beim Frosch in Narkose noch während des Lebens zahlreiche Organe bzw. Gewebe wie Lunge, Mesenterium, Zunge, Haut, Pigmentgewebe, Nerven u. a. mikroskopisch beobachten; an der ausgebreiteten Harnblase desselben Tieres lassen sich glatte Muskelzellen, Epithelien u. a. betrachten.

65. Beim Kaninchen wurden die Veränderungen der sezernierenden Drüsenzellen des Pankreas (Kühne und Lea 74) und der Parotis (Langley 79) längere Zeit bei intakter Blutzirkulation am lebenden Tiere mikroskopisch untersucht.

66. Bedeckt man den Nagefalz mit einem Tropfen Kanadabalsam und einem Deckglas, so kann man bei starker auffallender Beleuchtung nach Weiß die Kapillaren und kleineren Hautgefäße beobachten. (Blutstrom, Kontraktion der Wandgefäße usw.)

67. Während bei all diesen Methoden noch eine Verbindung zwischen dem Präparat und dem Tiere selbst besteht, handelt es sich bei eigentlichen **Gewebekulturen** um Organ- oder Gewebsteile, die außerhalb des Organismus und seinem Einfluß entzogen in einem geeigneten Medium am Leben erhalten werden. In strengerem Sinne kann man dabei noch zwischen einem überlebenden Präparat und einer eigentlichen Gewebekultur unterscheiden, je nachdem dasselbe eine bloße Fortdauer des Lebens oder aktives Wachstum (Größenzunahme) zeigt. Über die historische Entwicklung siehe Oppel (13, 14). Zusammenfassende Überblicke über die Technik bei Carrel und Burrows 12 und Carrel 12.

68. Bei niedriger Temperatur (etwa 0° C) lassen sich Organfragmente und Zellen lange Zeit in latentem Lebenszustand erhalten. (Vgl. an neuerer Literatur Wentscher (98 u. 03), P. Ehrlich (06), Michaelis (05), O. Hertwig und Poll (07), Jolly (10 u. 12). Kann man Organe daher nicht sofort weiterbehandeln, so bewahrt man sie am besten bei niedriger Temperatur auf.

69. Die moderne Technik der Gewebekultur geht in erster Linie auf Harrison zurück, der Gewebeteile des Frosches in steriler Froschlymphe züchtete. Burrows entdeckte dann weiterhin als günstigstes Kulturmedium das Blutplasma.

70. Beim **Anlegen von Gewebekulturen** ist in erster Linie auf peinlichste Asepsis zu achten. Alle Instrumente, Gläser usw., die beim Anlegen der Kulturen gebraucht werden, müssen keimfrei gemacht werden. Bei nachlässigem Arbeiten wird man nur Mißerfolge haben. Vor Anlegen einer Kultur durchdenke man das Ganze bis auf den kleinsten Handgriff.

71. Vorbereitung. Die zur Operation des Tieres usw. benötigten Instrumente werden in 1% Sodalösung durch 10 Minuten langes Kochen sterilisiert. Messer lege man in 70—90% Alkohol. Tücher, Kompressen usw. werden im Kochschen Dampftopf sterilisiert, ebenso Glaswaren. Die letzteren können auch im Heißluftsterilisator keimfrei gemacht werden. Legt man Deckglaskulturen an, so sterilisiert man sich Deckgläser und dazugehörige hohlgeschliffene Objektträger in einzelnen Petrischalen. In einfachster Weise, aber nicht so sicher kann man sie auch dadurch sterilisieren, daß man sie mehrmals durch eine Flamme zieht und abkühlen läßt.

72. Gewinnung von Blutplasma. Bei größeren Tieren, z. B. Kaninchen oder Meerschweinchen, legt man in Narkose die rechte oder linke art. carotis com. in 1—3 cm Länge frei, klemmt dieselbe unten und oben mit je einer weichen Arterienklemme ab. Dann durchtrennt man die Arterie dicht unterhalb der kopfwärts gelegenen Klemme, tupft etwaiges Blut und Gewebesaft sorgfältig ab, faßt das freie Arterienstück an seiner Adventitia mit einer dritten feinen Klemme, so daß man nach Öffnung der unteren, herzwärts gelegenen Klemme den vorschießenden Blutstrahl in beliebiger Richtung dirigieren kann. Das hervorspritzende Blut fängt man in sterilen, paraffinierten, eisgekühlten Zentrifugenröhrchen auf, bedeckt sie dann mit einer Glaskappe und zentrifugiert rasch, am besten in einer gekühlten Zentrifuge. Nach einigen Minuten füllt man das klare, gelblich gefärbte Blutplasma mit einer sterilen paraffinierten Pipette in ebensolche Röhrchen, welche in den Eisschrank gestellt werden. Derartig gewonnenes Blutplasma läßt sich bei vielen Tieren, z. B. Kaninchen, Meerschweinchen, Hasen bis zu mehreren Wochen ungeronnen aufheben. Bei Berührung des Plasmas mit nicht paraffinierten oder nicht eingeölten Gegenständen oder bei Verunreinigung mit Gewebesaft tritt sofort Gerinnung ein. Manche, wie z. B. Rattenplasma, gerinnen auch bei sorgfältigster Bereitung schon nach einigen Stunden.

73. Durch Zusatz von oxalsaurem Natrium läßt sich die Gerinnung hintanhalten, dasselbe muß vor Anlegen der Kultur durch Calciumchlorid wieder entfernt werden. Diese Methode ist jedoch weniger empfehlenswert.

74. Bei kleineren Tieren, wie z. B. beim Frosch, gewinnt man das Blutplasma am besten in der Weise, daß man unter Narkose mit einem Scherenschlag das Herz freilegt, mit einer eingeölten Injektionsnadel den Ventrikel punktiert und das Blut langsam in eine eingeölte Rekordspritze saugt. Hierauf läßt man es sorgfältig in ein paraff. Zentrifugenglas ausfließen, zentrifugiert usw. Alles selbstverständlich unter strengster Asepsis. Die Haut läßt sich durch Bestreichen mit einem glühenden Metallspatel oder mit 10% Jodtinktur sterilisieren.

75. Gewinnung von Froschlymphe. Man hängt einen narkotisierten Frosch mit dem Kopf nach unten an den ausgestreckten Hinterbeinen auf. Die Lymphe sammelt sich dann nach einiger Zeit in dem großen Rückenlymphsack an, den man oben, d. h. in Beckenhöhe durch einen

winkelförmigen Hautschnitt mit der Schere eröffnet. Hebt man sodann den Hautzipfel mit einer Pinzette ab, so kann man mit Leichtigkeit, ohne anzustreifen, eine sterile paraffinierte Pipette einführen und Lymphe herausholen.

76. Zur Gewinnung von **Hämolymphe** von Schmetterlingspuppen legt man dieselben kurze Zeit in 90% Alkohol und eröffnet die Leibeshöhle durch einen dorsalen Medianschnitt. (Goldschmidt 16.)

77. Zur **Anfertigung der Deckglaskultur** selbst zerlegt man das betreffende dem Tiere frisch entnommene Gewebe etwa mit Hilfe einer scharfen Nadel und einem Starmesser in **kleinste**, nicht über 1 cmm messende Teilchen. Sodann bringt man ein derartiges Teilchen auf ein steriles Deckglas und bedeckt es sofort mit einem Tropfen Blutplasma oder Lymphe. Das Medium gerinnt meist sehr rasch. Unterdessen wird das Deckglas umgedreht, mit dem Tropfen nach unten auf einen hohlgeschliffenen Objektträger gelegt und durch Vaseline (Schmelzpunkt 46°) oder Paraffin gegen Luftzutritt abgeschlossen. Dieser ganze Vorgang hat sehr rasch zu erfolgen, da das Gewebe gegen Austrocknen sehr empfindlich ist. Es wird daher auch empfohlen, das Zerteilen der Organstückchen in etwas steriler Ringerscher Lösung vorzunehmen. Das Übertragen der Stückchen erfolgt dann mit Hilfe einer Pipette.

78. Gewebestückchen, welche beim Zerteilen stark gequetscht wurden, sterben meist ab.

79. Am günstigsten wirkt Blutplasma vom gleichen Tier oder der gleichen Tierart (autogenes oder homogenes Blutplasma). Blutplasma einer anderen Tierart (heterogenes Blut) ruft unter Umständen Wachstumshemmung hervor. Carrel empfiehlt das Blutplasma zu ¼ bis ⅖ des Volumens mit destilliertem Wasser zu verdünnen. In anderen Fällen ist Zusatz von Embryonen- oder Muskelextrakt vorteilhaft. Auch andere Extrakte anderer Organe wurden versucht. Dieselben werden meist in der Weise gewonnen, daß die betr. zerquetschten Gewebe mit sterilem destillierten Wasser geschüttelt und auf mehrere Stunden in den Eisschrank gestellt werden.

80. Das Leben derartiger Gewebekulturen ist beschränkt, da sich einerseits der im Kulturmedium vorhandene Sauerstoff sowie die eigentlichen Nährstoffe erschöpfen, und anderseits die Zellen des Explantates schädlich wirkende Stoffwechselprodukte abscheiden. Gewöhnlich machen sich nach 4—8 Tagen Degenerationsprozesse geltend, oft schon früher. Nach 15 Tagen ist das Wachstum meist erloschen.

81. Verjüngerung der Kultur. Carrel fand, daß sich das Leben einer Gewebekultur jahrelang verlängern läßt, wenn man die Kultur von Zeit zu Zeit in frisches Nährmedium überträgt. Zu diesem Zwecke wäscht man die Kultur an jedem 3. oder 4. Tag einige Minuten in steriler Ringerscher Lösung und fügt dann einen neuen Tropfen des Nährmediums zu. Gegebenenfalls kann man auch Teile der Kultur ausstechen, in Ringerscher Flüssigkeit waschen und in frischem Plasma isoliert weiterzüchten.

82. Auch **künstliche Nährboden** wurden verschiedentlich benützt; sie geben jedoch, wenigstens bis jetzt, weniger günstige Resultate als Blutplasma oder Lymphe. Carrel gibt u. a. folgendes Medium an: NaCl 0,9; $CaCl_2$ 0,024; KCl 0,042; Glukose 0,1; Agar 3; destilliertes Wasser 100,0. W. H. und M. R. Lewis benützen Ringersche Lösung (s. § 50), der sie bis zu 0,25% Glukose zusetzen, als Kulturmedium. Sie untersuchten auch den Einfluß der einzelnen Komponenten der genannten Lösung auf das Wachstum. Bei Anlegen einer Kultur muß bei nicht gerinnenden, flüssigen Intermedien der Flüssigkeitstropfen mit einer Glasnadel in dünner Schicht über die Mitte des Deckglases ausgebreitet werden.

83. Zur Anlegung größerer Kulturen empfiehlt Carrel Gabritschewski-Schalen, in denen er die Kulturen zum Teil auf feinen Seidenschleiern anlegt.

84. Um einen Wechsel der Nährflüssigkeit usw. ohne eine Übertragung des Explantates zu ermöglichen, wurden eigene Apparate konstruiert (Burrows 12, Romeis 12).

85. Temperatur. Die Kulturen von Kaltblütern werden am besten bei Zimmertemperatur gehalten; Kulturen von Warmblütern bedürfen einer konstanten Temperatur von 37—39° C. Um bei ihrer Untersuchung unter dem Mikroskop eine Abkühlung zu vermeiden, wurden verschiedene Vorrichtungen konstruiert. Das Prinzip der einen beruht darauf, daß das ganze Mikroskop in einen mit Armlöchern versehenen Wärmekasten gestellt wird, der mittels eines Thermoregulators auf konstanter Temperatur gehalten wird. Derartige Kästen werden von Zeiß, Lautenschläger, Leitz u. a. geliefert. Bei den anderen Konstruktionen erfolgt die Erwärmung der Präparate durch den mit warmem Wasser oder Elektrizität geheizten Objekttisch.

86. Die **Konsistenz** des Kulturmediums ist von großem Einfluß auf die Form der in der Kultur auftretenden

Zellen (vgl. Uhlenhut 14). Dieselben bedürfen irgendeines festen Substrates, an dessen Oberfläche sie sich ausbreiten können. Als solches dient z. B. die Deckglasfläche, das Fibringerüst oder die Oberfläche des geronnenen Blutplasmas, Seidenfäden usw.

87. Von Interesse ist die Beobachtung Deetjens (06), daß sich die Lebensäußerungen weißer Blutzellen intensiver und längerdauernder erhalten, wenn man Objektträger bzw. Deckgläser aus Bergkristall, Quarz oder Marienglas nimmt.

88. Zur **Fixierung von Kulturen** können im Prinzip alle später angegebenen Flüssigkeiten verwendet werden. Am einfachsten läßt man die Deckgläser mit der Kultur nach unten auf der Fixierungsflüssigkeit schwimmen. Gute Erfolge, besonders für Übersichtsbilder, gibt Fixierung in Formol (1:4) § 139, nach Bouin § 163, Orth § 132, Carnoy § 118: Dauer bei den drei letztgenannten 10 bis 15 Minuten. Bei mehrstündiger Einwirkung leidet bei Orth die Färbbarkeit der Kerne. Bei Orthscher und Zenkerscher Flüssigkeit (§ 184) ist es oft gut, die Fixierungsflüssigkeit auf 40—50°C zu erwärmen. Die Form der Zellen wird auch sehr gut durch kurze Räucherung mit Osmiumsäuredämpfen (1—2 Min.) fixiert (vgl. auch § 152). Die Kulturen können in toto gefärbt und montiert werden. Größere Gewebsfragmente sticht man aus und bettet sie nach einem der üblichen Verfahren ein. Bei Fixierung nach Orth oder Zenker wäscht man in Wasser aus und überträgt die Präparate — wenn nicht Fett oder Lipoidnachweis beabsichtigt wird — zuerst durch 70% Alkohol in 90% Alkohol, entfernt bei Zenker das Sublimat durch Jod, das Jod durch Natriumthiosulfat (vgl. § 176), wäscht gut in Wasser aus und färbt nun erst mit Hämalaun od. dgl. Die Kerne färben sich auf diese Weise besser. Anilinfärbungen sind bei Totalpräparaten häufig nicht brauchbar, da sich das Plasma stark mitfärbt.

4. Kapitel. **Fixation für allgemeine Zwecke.**

a) Allgemeines über die Fixierung.

89. Da sich frische Präparate sehr bald nach der Entnahme aus dem Organismus hochgradig verändern, so ist es eine Hauptaufgabe der Mikrotechnik, diese postmortalen Vorgänge hintanzuhalten und die Struktur der Gewebe

in einem dem anfänglichen Zustand möglichst getreuen Abbild festzuhalten, **zu fixieren.** Man bedient sich dazu in den meisten Fällen der Einwirkung gewisser Lösungen, der sog. **Fixierungsflüsigkeiten.** Bei der Betrachtung fixierter Präparate hat man sich stets vor Augen zu halten, daß keine der bisher bekannten Flüssigkeiten die Struktur der Objekte in dem Zustand zu erhalten vermag, in welchem diese sich während des Lebens befinden, und daß sie daher auch bei bester Methodik immer Kunstprodukte, »Zelleichen«, liefern. Da diese Artefakte jedoch unter gleichen Bedingungen und gleichbleibender Technik immer übereinstimmendes Aussehen bieten, so lassen sich aus ihnen trotzdem wertvolle Schlüsse auf den Zustand des lebenden Präparates ziehen, zumal wenn man gleichzeitig durch Vergleich von lebendem und fixiertem Material über den Grad dieser Veränderungen Aufschluß zu gewinnen sucht. Gerade deshalb ist ja auch neben der Untersuchung des fixierten Präparates die des frischen und lebenden von so großer Wichtigkeit. Ist es doch beispielsweise möglich, daß eine im fixierten Präparat als körnige oder fädige Struktur sichtbare Substanz in der lebenden Zelle diffus flüssig verteilt ist und erst durch die Einwirkung der Fixierungsflüssigkeit in die genannte Erscheinungsform übergeführt wird.

90. Neben der durch die Fixierung bewirkten Veränderung der Struktur hat man ferner die Veränderungen der Form zu berücksichtigen. Diese bestehen hauptsächlich in einer **Schrumpfung,** d. h. einer mit Volumverminderung verbundenen Gestaltsveränderung, welche häufig während der der Fixierung folgenden Nachbehandlung noch erheblich zunimmt, so daß sie schließlich bis zu 20—40% der ursprünglichen Größe betragen kann (s. Tellyesniczky 98, 02; Berg 03, 07, 08). Kaiserling und Germer (93) behaupten auf Grund ihrer Experimente an Blutzellen geradezu, daß alle Reagentien außer der physiologischen Kochsalzlösung schrumpfend wirken. Verschiedentlich wurde versucht, die Fixierungsflüssigkeiten durch Zusatz von Salzen oder Zucker den Geweben isoosmotisch zu machen (vgl. H. Stoeltzner 06, Tobler 09, Hoeber 14 u. a.), ein Vorgehen, dessen Zweckmäßigkeit von anderer Seite jedoch bestritten wurde (vgl. Berg 05, Blum 10 u. a.). Den Einfluß der Konzentration der Fixierungsflüssigkeit auf die Form feiner Zellstrukturen (Chondriosomen) untersuchten Bang und Sjövall (16).

91. Bei der Fixierung spielt die Fällung der Eiweißkörper durch die Fixierungsmittel eine wichtige Rolle. A. Fischer(99) hat in vitro die »Fällungskraft« zahlreicher Fixierungsmittel an verschiedenen Eiweißkörpern, nämlich 1. an Nukleinsäure (aus Hefe), 2. an Deuteroalbumose und 3. an Serumalbumin untersucht. Die erstere wurde gewählt wegen ihrer engen Beziehungen zum Chromatin, die Albumose könnte vielleicht als Verdauungsprodukt in gewissen Geweben erscheinen, das Serumalbumin charakterisiert die beiden großen, fixierungstechnisch übereinstimmenden Gruppen der Albumine und Globuline, überhaupt die Gerinnselbildner. Nach dem spezifischen Verhalten dieser Eiweißkörper zu den Fixierungsmitteln und nach der Löslichkeit oder Unlöslichkeit der Niederschläge in Wasser gruppieren sich die wichtigsten Fixierungsmittel folgendermaßen:

I. Nukleinsäure wird nicht oder nur durch starke Konzentration gefällt, Deuteroalbumose wird gar nicht, Serumalbumin sowohl aus alkalischen als saueren Lösungen gefällt.

Salpetersäure, Essigsäure und damit gesäuerter Alkohol. Unzuverlässige Fällungsmittel, die im Überschuß oft wieder lösen.

II. Nukleinsäure wird gar nicht, Deuteroalbumose und Serumalbumin werden nur aus sauren, nicht aus alkalischen (oder neutralen) Lösungen gefällt. Die Niederschläge sind unlöslich.

Osmiumsäure, Kaliumbichromat, Altmanns Gemisch, Müllersche Flüssigkeit, molybdänsaures Ammonium.

III. Nukleinsäure, Deuteroalbumose und Serumalbumin werden bei jeder Reaktion gefällt.

1. Die Fällung der Nukleinsäure und der Deuteroalbumose ist in Wasser leicht löslich; Serumalbumin wird koaguliert.
   Alkohol, Azeton, Pikrinsäure, Pikrin-Schwefelsäure.
2. Alle Fällungen in Wasser unlöslich.
   Chromsäure, Sublimat, Platinchlorid, Formaldehyd, FlemmingscheFlüssigkeit(Chrom-Osmium-Essigsäure) Hermannsche Flüssigkeit (Platinchlorid-Osmium-Essigsäure).

Hier würden sich noch die meisten Gemische anschließen, z. B. Chrom-Essigsäure, Chrom-Ameisensäure, Chromsäure-Platinchlorid, Sublimat-Essigsäure, kurz alle, die mit Chromsäure oder Sublimat oder Platinchlorid versetzt sind, wenn auch die andere Komponente zu Gruppe I, II oder III gehört.

Eingehend bespricht Fischer (99) auch die Bedeutung des Umstandes, daß Eiweißkörper, welche durch Fixierungsmittel mit geringer Fällungskraft nicht gefällt wurden, bei der Nachbehandlung durch Alkohol gefällt werden können, so daß das schließliche Resultat oft weniger der angewandten Fixie-

rungsflüssigkeit als der Nachbehandlung mit Alkohol zuzuschreiben ist.

Wenn auch nicht alle Beobachtungen Fischers an Eiweißkörpern in vitro ohne weiteres auf die lebende Zelle übertragen werden dürfen, so enthalten sie doch das erste methodische Studium der Fixierungsmittel und lehren auf jeden Fall so viel, daß nicht sämtliche in der Zelle nach Einwirkung von Fixierungsmitteln sichtbaren Strukturen, insbesondere jedes Körnchen, auch schon als im Leben vorhanden betrachtet werden müssen. Damit soll jedoch nicht gesagt sein, daß alle Strukturen in fixierten Objekten Kunstprodukte, Gerinnungserscheinungen sind; wir können vielmehr behaupten, daß eine große Anzahl von Differenzierungen des Protoplasmas und des Kernes, welche wir direkt im Leben zu beobachten imstande sind (Flemming 82), durch gewisse Fixierungsmittel erhalten werden. A. Fischer hat uns für alle Fälle gezeigt, auf welche Punkte bei der Fixierung der Zellen zunächst zu achten ist.

92. Bisweilen beruht der Wert der Fixierungsmittel (z. B. bei Osmiumsäure oder Formol) unter anderem darin, daß sie selbst wenig fällungsfähig sind, die Zellsubstanz aber so verändern, daß die Entstehung sonst bei der Nachbehandlung mit Alkohol auftretender Artefakte ausbleibt (Mönckeberg und Bethe 99, O. Schultze 10b).

93. Eine lehrreiche Zusammenstellung der zahlreichen, bei der Fixierung in Betracht zu ziehenden Faktoren gab jüngst Schaffer (18) mit Hinweisen auf die darüber vorliegende Literatur (vgl. ferner auch Apathy 10).

94. Man fixiere womöglich immer in **lebensfrischem** Zustand, da sich die Organe nach dem Tode sehr rasch verändern; so haben Policard und Garnier schon 15 Minuten nach dem Tode relativ große Veränderungen an der Niere beobachtet. Die rasche Veränderlichkeit von Magen und Pankreas ist allgemein bekannt. Über die Veränderung faulender Organe siehe Falk (67). Material, das man nicht sofort fixieren kann, hebt man am besten bei niederer Temperatur (im Eisschrank) auf (s. auch § 909).

95. Von großer Bedeutung ist das **Diffusionsvermögen** der Fixierungsflüssigkeit, das aber auch von der Beschaffenheit des zu fixierenden Organes abhängt und sogar bei ein und derselben Organart je nach dem jeweiligen Funktionszustand usw. wechseln kann. Dringt eine Fixierungsflüssigkeit nur langsam ein, so dürfen die in sie eingelegten Stücke nur geringe Dicke besitzen, da sich sonst die im Innern gelegenen Zellelemente vor ihrer Fixierung mehr oder weniger stark verändern können. Ist die Dicke eines Stückes eine geringe, wie z. B. bei dünnen

Membranen, so ist Länge und Breite unwesentlich. Die Stückgröße von Organscheiben kann demnach eine beliebige sein, wenn die kleinste Seite des Stückes die im folgenden bei den einzelnen Flüssigkeiten meist angegebene Maximalgröße nicht überschreitet. Um die Einwirkung der Fixierungsflüssigkeit von allen Seiten zu ermöglichen, ist es gut, den Boden der Gefäße vor dem Einlegen der Organe mit Glaswolle, Filtrierpapier oder Watte zu bedecken oder die Organe in der Flüssigkeit in Körbchen (Schaffer 99b) od. dgl. aufzuhängen.

96. Die **Dauer der Fixierung** ändert sich je nach Zusammensetzung der Flüssigkeit und der Beschaffenheit des Objektes sowie dem beabsichtigten Zwecke. Häufig dringt die Fixierungsflüssigkeit verhältnismäßig langsam ein, weshalb man die Stücke nicht zu bald aus der Flüssigkeit nehmen darf; anderseits darf sich aber die Einwirkung auch nicht auf unbegrenzte Zeiten ausdehnen, da die Präparate in vielen Flüssigkeiten mit der Zeit brüchig und schlecht färbbar werden, mazerieren, schrumpfen oder quellen. Im nachfolgenden sind bei den einzelnen Flüssigkeiten meist die Zeiten kürzester Einwirkung für kleine (3—5 cmm messende) Stückchen angegeben. Größere Stücke sind entsprechend länger zu behandeln.

97. In vielen Fällen zeigen die Randpartien eines Objektes ein anderes Fixierungsbild wie die zentral gelegenen, was sich insbesondere an den feineren Zellstrukturen bemerkbar macht. Die periphere Fixierungszone ist meist die dem lebenden Zustand entsprechendere, was bei zytologischen Untersuchungen zu beachten ist.

98. Durch einseitiges Eindringen der Fixierungsflüssigkeit kann eine Verlagerung von Protoplasma- und Kerninhalt nach einer Seite hervorgerufen werden (Tellyesniszky, ferner Schaffer 18 u. a.).

99. Einfluß der Temperatur. Um die Diffusion der Fixierungsflüssigkeit zu beschleunigen, wird vielfach vorgeschlagen, die Fixierung zumal während der ersten halben Stunde bei erhöhter Temperatur, gewöhnlich bei 37—40° C im Thermostaten vorzunehmen. Schuberg (10) bringt die Organe in die zum Kochen erhitzte Fixierungsflüssigkeit, die er dann kurze Zeit darauf durch Nachschütten von bereitgestellter kalter Lösung rasch wieder abkühlt.

100. Policard (1913) empfiehlt dagegen bei niedriger Temperatur, am besten im Eisschrank bei $\pm 0^0$

bis + 6° C zu fixieren. Er fand bei seinen vergleichenden Versuchen, daß dabei die Struktur auch bei größeren Organstücken erheblich besser erhalten bleibt als bei Fixation in warmer Flüssigkeit, was zum großen Teil auf dem Stillstand autolytischer Prozesse beruht. Die durch die Abkühlung bewirkte Verminderung der Diffusionsgeschwindigkeit kommt demgegenüber praktisch nicht in Betracht. Ich kann die Richtigkeit der Angaben Policards an eigenen Versuchen bestätigen.

101. Fixation durch Injektion. Zur Fixierung großer Organe und ganzer Tiere injiziert man am besten die Fixierungsflüssigkeit durch die Blutgefäße.

Man bindet dazu nach Kolmer (12) eine Kanüle in den zentralen Stumpf der vena jugularis eines tief narkotisierten Tieres ein und durchspült den Blutkreislauf zunächst mit körperwarmer Ringerlösung, wobei man durch leichtes Massieren die Zirkulation in den Gefäßen des nicht angebundenen Tieres fördert. Sobald die Flüssigkeit aus dem peripheren Jugularisstumpf klar abfließt und das Herz stillsteht, öffnet man rasch die Brusthöhle, steckt in die linke Herzkammer eine Kanüle und läßt nun die gewünschte Fixierungsflüssigkeit einlaufen, wobei man den Druck für 30—40 Sekunden dem Blutdruck des Tieres entsprechend (nicht stärker!) erhöht. Zur Vermeidung von Gefäßverengerung ist es wichtig, daß die Fixierungsflüssigkeit möglichst unvermittelt die Salzlösung in den Blutgefäßen ersetzt. 10 Minuten später öffnet man die Körperhöhlen und legt das ganze Objekt noch in die Fixierungsflüssigkeit. Die Injektion muß unter Vermeidung von Luftblasen vor sich gehen. Bei kleinen Tieren führt man die Kanüle gleich in den linken Ventrikel ein und macht in den rechten einen Einschnitt. Besonders geeignete Fixierungsflüssigkeiten sind: Müller-Formol (§ 132), Zenker-Formol (175) oder nach Held: gesättigte Lösung von Kaliumbichromat 2 (4) Teile, 10%iges Formol 2 (4) Teile, Eisessig 1 Teil oder gesättigte Lösung von Kaliumbichromat 2 Teile, 10%iges Formol 2 Teile, gesättigte Lösung von Sublimat 2 Teile, Eisessig 1 Teil. Nach der Fixierung 12—24 stündige Nachbehandlung in 5%iger wässeriger Lösung von Lithium sulfuric. Dann gründliches Auswaschen mit Wasser. Der Erfolg dieser Methode ist bei richtiger Technik sehr gut. (Siehe auch Mann (94) Kolmer (12) u. a.). Wiesner (12) beschreibt einen zur Durchspülung sehr geeigneten Apparat.

102. Bei sublimathaltigen Flüssigkeiten sind Spritzen und Kanülen mit Metallteilen zu vermeiden.

103. Das Volumen der fixierenden Flüssigkeit darf nicht zu klein sein, sondern soll die Stückgröße für gewöhnlich mindestens um das 50- bis 100fache übertreffen.

104. Es gibt keine Fixierungsflüssigkeit, durch die sich alle Zell- und Gewebebestandteile gleichgut erhalten ließen. Daher ist es bei eingehenden Untersuchungen immer notwendig, mit mehreren Flüssigkeiten zu arbeiten. Wenn eine Flüssigkeit das eine Organ gut fixiert, so ist damit noch nicht gesagt, daß sie deshalb auch bei einem anderen den gleichen Erfolg gibt. Die Fixierbarkeit kann sich je nach dem physiologischen Zustand der einzelnen Zellen sogar bei den Zellen ein und desselben Gewebes innerhalb eines Tieres verschieden verhalten (vgl. auch Apathy 10). Jede Flüssigkeit gibt wieder andere Resultate. Nach Apathy ist keine Fixierung beendet, ehe das Objekt in 96% Alkohol gebracht wurde.

105. Die Fixierung bewirkt in vielen Fällen auch eine **Härtung** des Gewebes, ein Vorgang, der jedoch nur dann von Bedeutung ist, wenn uneingebettetes Material mit dem Rasiermesser geschnitten werden soll (s. auch § 55).

b) Nachbehandlung nach der Fixierung.

106. Mit der Fixierung ist die Behandlung des Präparates noch nicht beendet, da dasselbe nur in den wenigsten Fällen ohne Schaden in der Fixierungsflüssigkeit gleichzeitig auch aufgehoben werden kann. Meistens muß vielmehr hernach der Überschuß der Fixierungsflüssigkeit wieder aus dem Präparat entfernt, ausgewaschen werden. Je nach der Fixierung und der dabei verfolgten Absicht ist die Art der **Nachbehandlung** verschieden. Das **Auswaschen** erfolgt meist durch Wasser oder Alkohol. In manchen Fällen geht dem Auswaschen noch eine Imprägnierung mit irgendwelchen Metallsalzen, eine »Beizung« voran. Nach dem Auswaschen müssen die Präparate meistens **entwässert** werden, was durch Übertragen in wasserfreien Alkohol erfolgt. Um dabei aber starke Zerreissungen und Schrumpfungen zu vermeiden, erfolgt dies schrittweise, indem man die Präparate aus Wasser zunächst in schwachprozentigem Alkohol (50—70%) und dann allmählich in höherprozentigen überträgt. Welche Methode im einzelnen bei den verschiedenen Fixierungsflüssigkeiten eingeschlagen werden soll, wird bei den einzelnen Flüssigkeiten angegeben.

107. Tabelle I zeigt an, wieviel Kubikzentimeter destillierten Wassers man zu 100 ccm Alkohol von bestimmtem Prozentgehalt hinzuzufügen hat, um einen schwächeren zu erhalten.

Zur Bestimmung des Prozentgehaltes kleiner Alkoholmengen ist das nach Plates Angaben von Erich Koellner in Jena hergestellte Alkoholometerbesteck sehr zu empfehlen.

Sehr einfach ist folgende auch zur Verdünnung anderer Lösungen geeignete Methode: Soll aus einer Lösung von $a^0/_0$ eine solche von $b^0/_0$ hergestellt werden, so nimmt man b Teile der $a^0/_0$igen Lösung, $(a—b)$ Teile des Lösungsmittels und erhält a Teile der gewünschten $b^0/_0$igen Verdünnung. Z. B. aus $96^0/_0$igem Alkohol soll $70^0/_0$iger hergestellt werden. Man nimmt 70 Teile des $96^0/_0$igen Alkohols, fügt $(96—70) = 26$ Teile Wasser hinzu und erhält 96 Teile $70^0/_0$igen Alkohols. Soll ferner aus einer Lösung $(1:a)$, eine solche $1:b$ hergestellt werden, dann nimmt man a Teile der Lösung $(1:a)$, fügt $(b—a)$ Teile des Lösungsmittels dazu und erhält dann b Teile der Verdünnung $(1:b)$, z. B. Formalin (1:3) soll auf 1:20 verdünnt werden. 3 Teile von (1:3) werden mit 17 Teilen Wasser verdünnt = 20 Teile. 1:20. (Rieckenberg.)

Den gebrauchten Alkohol sammelt man, um ihn dann am besten aus einem Kupferkessel (im Glaskolben stößt er leicht stark) abzudestillieren. Als erstes Destillat bekommt man gewöhnlich einen $85—95^0/_0$ Alkohol. Diesen schüttelt man mit gebranntem Kalk gut durch und destilliert am nächsten Tag über dem CaO ab, worauf man reinen, völlig wasserfreien Alkohol erhält.

108. Zur Erleichterung des Auswaschens mit fließendem Wasser wurden zahlreiche Apparate angegeben. Einfach und bequem ist es, die Präparate in eine Spritzflasche von etwas dickerem Glas wie gewöhnlich zu bringen, und deren kurze Röhre mittels Gummischlauch an die Wasserleitung anzuschließen. Um ein Fortschwimmen kleiner Präparate zu verhindern, bindet man über die Öffnung des langen Rohres etwas Gaze. Die Ausflußöffnung ist nicht zu fein zu nehmen.

Empfehlenswert sind auch kleine, beiderseits offene Glaszylinder, welche mit feiner Gaze zugebunden und an einer Schnur in fließendes Wasser gehängt werden. Das Zubinden mit Gaze erspart man sich bei Verwendung der Steinachschen Siebdosen (87), der Schafferschen Netzkörbchen (99b) oder der Fairchildschen Porzellansiebe (96), welch letztere durch einen großen Korkstopsel schwimmend erhalten werden können. Thoma (94) konstruierte eine rotierende Trommel. Ich selbst benütze seit einigen Jahren mit gutem Erfolg einen von mir angegebenen Glasapparat, dessen Handhabung sehr einfach ist (Romeis 14).

109. Um das Spritzen des Wasserhahnes und das besonders nervösen Leuten lästige Geräusch des fließenden Wassers zu vermeiden, empfiehlt Schuberg (10) in den Wasserhahn einen weit durchbohrten Kork zu stecken, durch dessen Bohrung ein Bindfaden bis auf den Wasserspiegel herunterhängt.

110. Das Übertragen kleiner Objekte aus einer Flüssigkeit in eine andere erfolgt zweckmäßig mit einer Pipette oder dem Bornschen Siebspatel.

c) Zusammensetzung verschiedener Fixierungsflüssigkeiten für allgemeine Zwecke.

111. Eine Reihe von Flüssigkeiten wird nur für ganz spezielle Zwecke verwendet, wie z. B. für den Nachweis von Glykogen, gewissen Lipoiden usw., andere werden dagegen mehr oder weniger für alle Organe benützt, wobei sie, wenn sie auch nicht überall Gleichgutes leisten, doch einen allgemeinen Überblick gestatten. Die gebräuchlichsten Fixierungsflüssigkeiten letzterer Art sollen nachfolgend, in alphabetischer Reihenfolge nach ihrem jeweiligen Hauptkonstituens geordnet, zusammengestellt werden. (Vgl. auch noch die Tabelle II am Ende des Buches.)

Aceton.

112. Man fixiert kleine Stückchen (ca. 3 cmm oder kleiner) ½—1 Stunde lang und überträgt dann durch Xylol oder auch direkt in Paraffin. Wegen der Kürze des Verfahrens kommt es hauptsächlich für Schnelldiagnosen in Betracht. Im allgemeinen fixiert es schlecht und wirkt stark schrumpfend. (Neuere Literatur: Brunk 05, Henke und Zeller 05, Sitsen 05, Neumayer 09, Anitschkow 07.) (Über besser fixierende Mischungen siehe Sand (10) § 1040 und Szent Györgyi (14) § 1345.)

Alkohol.

113. Wird zur Fixierung kleiner Stücke am besten als **absoluter Alkohol** angewendet. Fixierungsdauer: bei sehr kleinen Stückchen (1—3 mm) genügen 1—3 Stunden, bei größeren entsprechend länger. Bedingung für gute Fixierung ist, daß man die Präparate auf dicker Watteschicht in große Mengen von abs. Alkohol bringt. Fette und fettartige Substanzen gehen bei Alkoholfixierung natürlich in Lösung. Dagegen werden andere wie z. B. Glykogen sehr gut erhalten. Zur Fixierung sehr wasserhaltiger Organe nimmt man wegen der starken Schrumpfungen statt abs. Alkohol besser das Carnoysche Gemisch (§ 118). Große Präparate können mit absolutem Alkohol in toto nicht fixiert werden. Man verwendet dazu besser

30—40%igen Alkohol. Nach 24 Stunden muß man, um Mazerationen zu vermeiden, in steigendem Alkohol weiterbehandeln. Für mikroskopische Untersuchung ist aber diese letztere Art der Fixierung nicht brauchbar.

114. Nach Fischer (99) wird der Alkohol infolge seiner großen allseitigen Fällungskraft und der Koagulierung der meisten Eiweißkörper wohl geeignet sein, dauerhafte Niederschläge zu bilden, während er anderseits vollkommen untauglich ist, aus Albumosen und Nukleinsäure bestehende, im Leben noch ganz oder halb gelöste Bestandteile der Zelle in den Präparaten zu erhalten.

115. Bei der Alkoholfixierung (wie auch bei vielen anderen) kann es besonders in den Randteilen des Präparates infolge der Diffusionsströme zu einer Verlagerung von Zell- und Kerninhalt, ja sogar von den Kernen selbst kommen [»Flucht des Inhaltes der Zelle gegen den Mittelpunkt des Stückes« Tellyesniczky (98), neuerdings Schaffer 18]). Ich sah diese Erscheinung aber auch oft ausbleiben.

116. Der Alkohol empfiehlt sich als chemisch-inaktives Fixierungsmittel besonders für Fälle, in denen es sich um Lösung chemisch-analytischer Fragen handelt, da durch ihn die chemische Konstitution der Proteide am wenigsten störend beeinflußt wird (also z. B. für Prüfung der Chromophilie u. a.). Stauffacher (14) hält den Alkohol auch für ein gutes Erhaltungsmittel der Struktur, sofern man ihn in einer dem betreffenden Gewebe angepaßten Konzentration verwendet.

117. Absoluter **Alkohol** mit Zusatz von **Eisessig** (z. B. 20 ccm auf 100 ccm Alkohol) dringt rasch ein und fixiert, nicht über ein paar Stunden angewandt, vielfach gut. Nach der Fixierung überträgt man direkt in reinen, absoluten Alkohol. Dann Einbettung.

118. Noch besser ist besonders für Kernstrukturen die **Carnoysche** Flüssigkeit (auch als van Gehuchtens Gemisch bezeichnet), welche aus 60 ccm absolutem Alkohol, 30 ccm Chloroform und 10 ccm Eisessig besteht. Die Lösung dringt sehr rasch ein. Kleine Objekte fixiere man nicht über ½—1 Stunde, selbst größere sind in 2—3 Stunden fixiert. Bei zu langer Einwirkung entstehen Schrumpfungen. Außerdem werden die Präparate sehr hart. Nach der Fixierung übertrage man gleich in absolutem Alkohol.

119. In **Alkohol-Formalin,** 2 Teile 80% — absoluten Alkohol und 1 Teil käufliches Formalin (Schaffer 08 u. 18), wird 1—2 Tage fixiert, größere Stücke länger. Sodann überträgt man in entsprechenden reinen Alkohol. Nimmt man 80% Alkohol, so bewahren bei rascher Weiter-

behandlung auch sehr dotterreiche Embryonen nach meinen Erfahrungen gute Schneidefähigkeit.

120. Nach Reimann und Unna (12) soll ein Zusatz von 2% Chlorzink zum 96% Alkohol (besonders für Protoplasmadarstellung) gute Resultate geben.

121. Rudnev (07) legt frische Organe in eine dünne Alkohol-Äther-Celloidinlösung (vgl. § 232 2% Lösung) und beläßt sie darin längere Zeit (bis zu Wochen). Die Mischung fixiert, wird dabei dicker und kann gleich zum Einbetten verwendet werden (vgl. Celloidindurchtränkung).

Chromsäure und Chromsalze.

122. Chromsäure allein wird zur Fixierung in ⅓ bis ½% wässeriger Lösung angewandt. Kleine Stücke fixiere man nur einige Stunden, größere dagegen mehrere Tage bis Wochen, wobei man die Flüssigkeit, die mindestens das 200fache an Volumen betragen soll, mehrmals erneuert. Nach der Fixierung wird in fließendem Wasser gut ausgewaschen, bis die gelbe Farbe der Stücke möglichst verschwindet. Die Chromsäure geht bei der Fixierung nach von Tappeiner (90) mit Eiweiß und Leim schwerlösliche Verbindungen ein.

123. Ohne Zusatz wird die Chromsäure nur mehr selten angewandt, da sie das Protoplasma schlecht fixiert; etwas besser erhält sie das Kernchromatin. Sehr starke und sehr verdünnte Konzentrationen zerstören den Kerninhalt.

124. Chromessigsäure, d. h. eine 0,5% Chromsäure mit 5% Eisessigzusatz fixiert besser als Chromsäure.

125. Das wichtigste Chromsäuregemisch ist die **Chrom-Osmium-Essigsäure** von Flemming (82 u. 95a). Das sog. **starke Gemisch** besteht aus: Chromsäure 1% 15,0; Osmiumsäure 2% 4,0; Eisessig 1,0. Man halte sich die einzelnen Lösungen getrennt vorrätig und vereinige sie erst kurz vor Gebrauch.

Da die Flüssigkeit nur langsam in das Gewebe eindringt, so dürfen in ihr nur kleine Stücke fixiert werden (nicht über 2—3 mm Seite, besser kleiner). Man läßt die Flüssigkeit, bei der das 5fache Volumen der Stückgröße ausreicht, wenigstens 24 Stunden einwirken, besser länger, selbst wochenlang; doch werden sehr zarte Objekte durch zu lange Einwirkung schließlich sehr brüchig. Nach der Fixierung wird 24 Stunden lang in fließendem Wasser ausgewaschen; dann übertragen in 70%, 80% und 90% Alkohol usw.

Die Flemmingsche Lösung ist für kleine Stücke eine der besten Fixierungsflüssigkeiten. Sie fixiert Kern und

Protoplasma gleichgut, auch die feinsten Strukturen. Gefärbt wird am besten mit Safranin, Gentianaviolett oder Eisenhämatoxylin. Siehe darüber § 358, ferner auch § 528.

126. Außer dem starken Gemisch hat Flemming noch ein **schwaches Gemisch** angegeben, das man aus folgenden Lösungen zusammensetzt: Chromsäure 1% 25,0; Osmiumsäure 2% 5,0; Essigsäure 1% 10,0; Aqu. dest. 60,0. Fixierungsdauer 24 Stunden-Wochen; Nachbehandlung wie bei § 125.

127. Folsches Gemisch. Chromsäure 1% 25,0; Osmiumsäure 1% 1,0; Essigsäure 2% 5,0; Aqu. dest. 68,0. Anwendung wie bei Flemmingscher Lösung.

128. Sehr häufig kommt das **saure chromsaure Kali** (Synonyme: doppeltchromsaures Kali, **Kaliumbichromat,** dichromsaures Kali) als Fixierungsmittel, hauptsächlich in Gemischen, zur Anwendung. Braucht man es für sich allein, was nicht empfehlenswert ist, so wird es ansteigend in 2—5% Lösung gebraucht, d. h. die Stücke kommen zuerst in 2%, dann in 3%, 4%, 5% Lösung. Die Form der Zellen wird zwar nicht schlecht konserviert, die Kerne werden dagegen meist homogen.

129. Nach Burchardt (97) sind die Chromsalze des Kaliums, Natriums, Lithiums u. a. kernzerstörend, während die Bichromate von Calcium, Barium und Cuprum die Chromatinstruktur erhalten. Daher folgende Mischungen, welche die Zellstruktur im allgemeinen gut fixieren:

a)		b)	
Calc. bichr. 4%	60,0	Barium bichr. 4%	60,0
Kal. bichr. 5%	30,0	Kal. bichr. 5%	30,0
Eisessig	5,0	Eisessig	5,0

c) Cupr. bichr. 6% 60,0
Kal. bichr. 5% 30,0
Eisessig 5,0

Fixierungsdauer 6—24 Stunden; hierauf gründlich wässern.

130. Sehr verbreitet war früher die **Müllersche Flüssigkeit,** die aus 2,0—2,5 g Kal. bichrom. und 1 g Natr. sulfuric. auf 100 ccm Wasser besteht. Nicht allzu große Stücke werden hierin längere Zeit im Dunkeln fixiert. Anfangs wird die Flüssigkeit täglich gewechselt, später wöchentlich 2mal; mitteldicke Objekte wie z. B. Rückenmark des Menschen brauchen mindestens 6—8 Wochen zur Durchfixierung. Fixierungsresultate wie bei Kaliumbichromat allein. Beträchtlich kürzere Zeit bei ziemlich gleichen Resultaten beansprucht die Erlickische Flüssigkeit.

131. Erlickische Flüssigkeit. (Kalium bichrom. 2,5 g; Cupr. sulfuric. 0,5 g; Aqu. dest. 100,0). Man wechselt die

Flüssigkeit alle 2 Tage. Die Fixierung erfolgt in 3—4mal kürzerer Zeit als bei der Müllerschen. Um die nach der Fixierung oft auftretenden Niederschläge zu beseitigen, empfiehlt Löwenthal, die Präparate vor der Behandlung mit Alkohol in 0,5% Chromsäure, in warmes Wasser oder in etwas mit Salzsäure angesäuertes Wasser zu legen.

132. Orths Gemisch besteht aus 9 Teilen Müllerscher Flüssigkeit zu der unmittelbar vor Gebrauch 1 Teil Formol gesetzt wird. Fixierungsdauer 24—48 Stunden im Dunkeln. 24stündiges Auswaschen in fließendem Wasser. Die Resultate sind unvergleichlich besser wie bei Müllerscher Flüssigkeit allein. Besonders Schridde (10) empfiehlt diese Fixierung.

Simons (15) fixiert dafür 5—24 Stunden mit einer haltbaren, geruchlosen Chromformolverbindung (**Chromoform**) in 2,5% wässer. Lösung. Nach P. Mayer (16a) bietet dieses keine Vorteile.

133. Tellyesniczky (98) empfiehlt, 3%iger Kaliumbichromatlösung vor Gebrauch 5 Proz. Essigsäure zuzusetzen, und 1—2 Tage zu fixieren, in reichlichem Wasser auszuwaschen und die Nachbehandlung mit 15% Alkohol zu beginnen (im Dunkeln). Diese einfache Flüssigkeit fixiert Kerne und Protoplasma gleichgut und dringt rasch ein. Der Essigsäurezusatz erfolgt erst unmittelbar vor Gebrauch.

134. Die Bedeutung des Essigsäurezusatzes zum Kaliumbichromat erhellt aus den Untersuchungen von A. Fischer (99); darnach werden durch Kaliumbichromat zahlreiche Eiweißkörper, namentlich aus alkalischer Lösung, nicht gefällt, die alle beim Ansäuern sofort ausfallen. Außerdem diffundiert Essigsäure sehr rasch. Eine ähnliche Rolle spielt die Essigsäure als Zusatz zu anderen Fixierungsflüssigkeiten.

135. Läßt man langsam fixierende Flüssigkeiten bei höherer Temperatur einwirken, so wird die Fixierungsdauer erheblich abgekürzt; so kann man z. B. mit Erlickischer Flüssigkeit im Thermostaten bei 40° C, vor Verdunsten geschützt, ein Rückenmark des Menschen in 4—5 Tagen genügend fixieren. Müllersche Flüssigkeit fixiert in diesen Verhältnissen in 8—10 Tagen. Zur Verhütung von Verpilzung usw. setzt man etwas Thymol zu. Die Objekte werden auf Glaswolle, Filtrierpapier od. dgl. gelegt, damit sie auf allen Seiten von der Fixierungsflüssigkeit umspült werden. Hierauf für gewöhnlich Auswaschen in fließendem Wasser, bis sie keine Farbe mehr abgeben. (1—2 Tage). Dann Alkohol usw.

136. Die in § 128, 130 u. 131 erwähnten Flüssigkeiten eignen sich nicht für das Studium der Kerne, da sie mehr

oder weniger deren Inhalt stark angreifen und zum Teil lösen. Dagegen spielen sie bei der Untersuchung des Nervensystemes und des Auges eine wichtige Rolle. Ferner werden sie oft zum Härten benützt. Vgl. § 55.

137. Setzt man die Objekte während der Fixierung mit chromhaltigen Flüssigkeiten und bei der Weiterbehandlung im Alkohol der Einwirkung der Lichtstrahlen aus, so bilden sich nach R. Virchow oft sehr störende künstliche Pigmente, welche unter Umständen mit natürlichen verwechselt werden können. Man stelle die Gläser daher ins Dunkle. Das Licht scheint auch die Löslichkeit der Eiweißfällungen zu beeinflussen.

Essigsäure.

138. **Essigsäure** allein wird zur Fixierung nur sehr selten gebraucht, da sie in dieser Form schlechte Ergebnisse liefert. Sehr häufig und mit großem Nutzen wird sie dagegen anderen Fixierungsflüssigkeiten zugesetzt. (Vgl. auch § 134). Als Eisessig bezeichnet man die 100% Essigsäure, während die sog. konzentrierte Essigsäure 4% Wasser enthält. Verdünnte Essigsäure (z. B. 1%) läßt bei Zusatz zu frischen Präparaten die Kerne infolge der in ihnen entstehenden Niederschläge deutlich hervortreten; das Protoplasma der Zellen wird dabei zum Teil gelöst.

Formol.

139. Das im Handel erhältliche **Formol** oder Formalin ist eine 40% Lösung von Formaldehyd in Wasser. Wegen seiner Zersetzlichkeit im Licht bewahrt man es in braunen Flaschen auf. Da das gewöhnliche Formol meist etwas Ameisensäure enthält, wird häufig Verwendung des säurefreien Formols von Schering (Berlin) empfohlen.

Zur Bindung entstehender Säure gibt Cajal auf den Boden der Formolflasche pulverisierte Kreide. Besser ist vorsichtiges Neutralisieren mit einigen Tropfen einer Lösung von Natriumkarbonat (Soda), s. a. § 558.

140. Zur Fixierung wird 1 Teil des käuflichen Formols mit 9 Teilen Wasser verdünnt, was einer 4% Formaldehydlösung oder einer 10% Formollösung entspricht. Man fixiert kleine Objekte 12—24 Stunden, größere länger. Nach der Fixierung wird mit Wasser ausgewaschen oder gleich direkt in 96% Alkohol übertragen.

Fischer (99) sieht eine 25% Formollösung als die rationellste an. Am besten finde ich die Methode Sjö-

brings (00), der **1 Teil Formol mit 4 Teilen Wasser** verdünnt. Die Objekte werden nach der Fixierung direkt in 96% Alkohol gebracht; bei Untersuchung auf Fett oder Lipoide wegen Gefahr der Lösung natürlich in Wasser.

Die Angaben über den Prozentgehalt der zur Fixierung benützten Lösung sind in der Literatur häufig unklar, da sich die Prozentzahl bei den einen Autoren auf den Formaldehyd, bei den anderen auf das Formol beziehen, wobei dann öfters statt Formaldehyd fälschlich Formol angegeben wird.

141. Das Formol ist zurzeit eines der gebräuchlichsten, billigsten Fixierungsmittel. Bei sehr einfacher Anwendungsweise konserviert es Form und Farbe der Präparate gut; infolge seines raschen Diffusionsvermögens fixiert es auch bei großen Stücken die Zellstrukturen leidlich gut. Von besonderem Werte ist seine Eigenschaft, Fette und Lipoide sehr gut zu erhalten. Ferner verleiht es dem Gewebe eine zum Schneiden sehr geeignete Konsistenz. Für gewisse feine zytologische Untersuchungen hat es sich dagegen meist nur bei gleichzeitigem Zusatz anderer Fixierer bewährt.

142. Nach Blum beruht die chemische Wirkung des Formols auf einer Methylinierung der Eiweißkörper, mit deren Amidogruppen der Formaldehyd unter Wasserabscheidung zusammentritt.

143. Hämoglobin kann sich bei der Fixierung in Methämoglobin, ev. in Hämatin verwandeln, auch in den Kern diffundieren. Die Beurteilung des Pigments wird durch derartige künstliche Niederschläge erschwert (Weigert 93, Browicz 00).

144. Formalinpräparate können hernach noch mit fast allen anderen Fixierungsflüssigkeiten **nachfixiert** werden (s. auch Hansen 08b); sie lassen sich mit den meisten Methoden färben und können auch mit der Golgischen oder Weigertschen Methode nachbehandelt werden.

145. Formol wird häufig mit anderen Fixierungsflüssigkeiten kombiniert; der Zusatz erfolgt dabei unmittelbar vor Gebrauch, da sich die betreffenden Flüssigkeiten nach Vereinigung meist rasch zersetzen.

146. Bei zu langer Fixierungsdauer werden die Präparate manchmal zu hart. Nach Schmidt (10) kann man die Härte durch Einlegen in 1% Silbernitratlösung für 14 Tage oder in 10% Zitronensäure beseitigen.

147. Die bei Formolfixierung manchmal auftretenden feinen braunen Niederschläge beseitigt man nach

Verocay dadurch, daß man die Präparate auf 10 Minuten in eine Mischung von 1 Teil 1% wässeriger Kalilauge und 25 Teilen 80% Alkohols bringt; dann 5 Minuten in zweimal gewechseltes Wasser, 5 Minuten in 80% Alkohol, dann auswaschen in fließendem Wasser.

Osmiumtetroxyd.

148. Osmiumtetroxyd (Synonyma: Osmiumsäure, Überosmiumsäure) wurde auf Veranlassung von F. E. Schulzes von M. Schultze und Rudneff (65) in die Mikrotechnik eingeführt. Es ist eine bei Zimmertemperatur sehr flüchtige Substanz, deren Kristalle in zugeschmolzenen Glasröhrchen in den Handel kommen. Zum Gebrauch hält man sie sich in 1% oder 2% Lösung vorrätig. Da Osmiumtetroxyd durch organische Substanz, wie z. B. Staub u. dgl. sehr leicht reduziert wird, so ist die Lösung mit ganz reinem Wasser anzusetzen und sehr gut zu verschließen. P. Mayer empfiehlt, zur Verhinderung der Reduktion zu je 100 ccm Lösung 10 Tropfen einer 5% Sublimatlösung zuzusetzen. Das Licht hat keinen Einfluß darauf. Beim Arbeiten mit Osmiumtetroxyd ist zu beachten, daß seine Dämpfe die Schleimhäute sehr stark reizen. Ein Nachteil ist der hohe Preis (1 g 7—12 M.).

149. Osmiumtetroxyd allein wird zur Fixierung gewöhnlich in 1%—2% wässeriger Lösung angewandt. Es fixiert momentan, dringt aber leider nicht tief in die zu fixierenden Stücke ein, so daß bei größeren bloß die an der Oberfläche des Organs gelegenen Zonen etwa $^1/_{10}$ mm tief fixiert werden, deshalb fixiere man in gut verschlossenem Glase möglichst kleine Stückchen. O. Schultze (10b) empfiehlt einige 1—2 cmm große Stückchen 1—2 Tage in 2—3 ccm Flüssigkeit zu fixieren. Nachbehandlung mit allmählich verstärktem Alkohol (im 96% 3 Tage) vgl. auch § 371. Zum Zwecke entsprechender Färbung kann man nach der Alkoholbehandlung noch gründlich wässern, um dann von neuem wieder in steigendem Alkohol zu entwässern. Über Bleichung osmierter Präparate siehe § 548.

150. Die Osmiumsäure verändert durch Oxydation die natürlichen Farben bestimmter Gewebe in verschiedenem Grade. So werden z. B. die Kerne schmutzig gelb, Muskeln und elastische Fasern graubraun, Oleinfett, Milchkügelchen, die Marksubstanz der Nebenniere, Nervenmark schwarz; es bilden sich dabei keine Myelintropfen, das Mark wird aber sehr brüchig. Das Protoplasma embryonaler Zellen färbt

sich intensiver wie das der fertigen. Osmiumsäure allein konserviert die Form der Zelle im ganzen sehr gut, fixiert aber einzelne Zellstrukturen wie z. B. das Chromatin schlecht. Bei zu langer Anwendung tritt Überfixierung ein, die Zellen werden glasig und lassen keine Struktur mehr erkennen.

151. Nervenmark schwärzt sich bei Einwirkung von Osmiumsäure auch an mit Chromsäure, chromsauren Salzen oder Formol fixierten Objekten. Auf vorgefärbte, geeignet fixierte Präparate kann Osmiumsäure ebenfalls angewandt werden.

152. Bei sehr kleinen Objekten wird die Osmiumsäure vorteilhaft auch in Dampfform angewandt (Hansen). Die betreffenden Zellen werden dabei außerordentlich rasch getötet und fixiert, wodurch ihre Form sehr gut erhalten bleibt (z. B. Pseudopodien u. dgl.). Man lasse aber die Dämpfe nicht zu lange einwirken (bei einzelnen Zellen ½—1 Minute, bei mehreren übereinanderliegenden Zellagen 1—3 Stunden).

Zur **Osmium-Räucherung** werden einige Tropfen einer Osmiumsäurelösung auf den Boden einer gut verschlossenen Glasdose gegeben und das Objekt derart darüber gebracht, daß es mit der Flüssigkeit selbst nicht in Berührung kommt. Gilson (85) empfiehlt die Räucherung in Dämpfen einer frisch hergestellten Mischung von Osmiumsäure und Essigsäure vorzunehmen.

153. Mit Osmiumsäure fixierte Objekte lassen nach Flemming auch Stückfärbung mit Hämatoxylin oder Alaunkarmin zu, besonders schön werden Präparate von Retina.

154. O. Schultze färbt mit Erfolg Objekte, die mit 1%iger Osmiumsäure und dann mit 1%iger Kaliumbichromatlösung mehrere Tage behandelt werden mit Alauncochenille. Die Stücke werden aus dem Kaliumbichromat direkt in die Farbe übertragen; besonders gut färben sich die Kerne.

155. Zur Konservierung der Osmiumschwärzung überträgt Heidenhain (07) die Objekte nach sorgfältiger Waschung in destilliertem Wasser in 70% Alkohol, dem etwas Natriumsulfid beigefügt ist. Die Schwärzung wird dadurch intensiver und vollkommen haltbar, während sie gewöhnlich vom Kanadabalsam allmählich stark angegriffen wird.

156. Osmiumsäure allein ist nach A. Fischer (99) ein sehr schwaches und unvollständiges Fällungsmittel für Eiweißkörper. Bei alkalischer Reaktion erzeugt sie keine Eiweißniederschläge. Bei geringem Ansäuern mit Essigsäure fallen die genannten Stoffe sofort in wasserunlöslicher Form aus. Bei den essigsäurehaltigen Osmiumsäuregemischen werden die zu fixierenden Elemente durch die rascher diffundierende Essigsäure angesäuert, bevor die Wirkung der Osmiumsäure zur Geltung kommt.

157. Außerordentlich wertvoll sind verschiedene Osmiumsäuregemische derselben, von denen die **Chrom-Osmium-Essigsäure** (Flemmingsche Flüssigkeit) bereits in § 125 angeführt wurde.

158. Hermannsche Mischung. Ebenfalls mit ausgezeichnetem Erfolg wendet man Platinchlorid-Osmiumsäure-Eisessig an (1% wässerige Platinchloridlösung 15 ccm; 2% Osmiumsäure 4 ccm; Eisessig 1 ccm). Behandlung wie mit Flemmingscher Flüssigkeit (Hermann 93).

159. Nach Flemming quellen die chromatischen Substanzen in Hermannscher Flüssigkeit etwas, wodurch z. B. die frühen Verdoppelungsstadien der Chromosomen an den mit ihr fixierten Objekten nicht zu sehen sind.

160. Nach der Hermannschen wie Flemmingschen Lösung und ähnlichen Osmiumgemischen kann man die Objekte auf 12—24 Stunden in rohen Holzessig legen. Dann wäscht man kurz aus und behandelt mit Alkohol. Es tritt hierbei eine eigentümliche Färbung des Objektes ein, die eine nachträgliche Färbung oft entbehrlich macht (Hermann 93).

Phosphorwolframsäure.

161. Rawitz (08) fixiert in Phosphorwolframsäure, welche »eines der mächtigsten Fällungsmittel der Eiweißstoffe« ist. Zusammensetzung: Phosphorwolframsäure in Lösung (Kahlbaum) 40 ccm; Alkohol 95% 50 ccm; Eisessig 10 ccm. Letzterer wird erst vor Gebrauch zugesetzt. Nach 24 Stunden direkt in 70% Alkohol usw. Die Alkohole sollen oft gewechselt werden und bis zu 48 Stunden einwirken.

Pikrinsäure.

162. Pikrinsäure wird allein oder in Gemischen vielfach zum Fixieren verwandt.

Für gewöhnlich benützt man sie als kaltgesättigte wässerige Lösung (in 100 ccm H_2O löst sich bei 15° etwas über 1 g). (Zusatz von 3—5 ccm Eisessig empfehlenswert.) Man fixiert, je nach Größe des Objektes, 1—24 Stunden, unter Umständen auch mehrere Tage (vgl. § 852). Auch Pikrinsäure-Eisessig (100:5) fixiert gut. Nach der Fixierung dürfen die Präparate nicht in Wasser ausgewaschen werden, sondern müssen gleich in 70% Alkohol gebracht werden, der öfter gewechselt wird. Ein völliges Herauswaschen der Pikrinsäure ist langwierig und unnötig. Falls Stückfärbung erwünscht ist, benütze man alkoholische Hämatoxylin- oder Karminlösungen.

Mit basischen Anilinfarben gibt Pikrinsäure Niederschläge, mit sauren nicht.

163. Sehr gute Resultate gibt die von **Bóuin** angegebene Mischung (15 ccm gesättigte, wässerige Pikrinsäurelösung, 5 ccm Formol und 1 ccm Eisessig). Die Lösung dringt rasch ein und fixiert besonders Mitosen sehr gut. Fixierungsdauer bei kleinen Stücken (5 cmm) 1 bis 2 Stunden, bei größeren entsprechend länger. Hierauf sogleich in 70—80%igen öfters gewechselten Alkohol.

164. Die **Pikrinschwefelsäure** von Kleinenberg wird folgendermaßen hergestellt: Man setzt zu 100 ccm einer gesättigten, wässerigen Pikrinsäurelösung 1 ccm konzentrierte Schwefelsäure, wobei sich ein reichlicher Niederschlag bildet. Nach 24 Stunden wird abfiltriert und das Filtrat mit dem zweifachen Volumen Wasser verdünnt. Man fixiert kleine, möglichst nicht über ½ cm dicke Stücke ca. 3—6 Stunden. Die Flüssigkeit dringt rasch ein. Auswaschen in 70% Alkohol. Für Organe mit reichlichem Bindegewebe ist die Flüssigkeit unbrauchbar, da die Schwefelsäure dasselbe stark quellen läßt. In kalkhaltigen Objekten entsteht leicht ein kaum entfernbarer Gipsniederschlag.

165. Den letzteren Übelstand vermeidet die **Pikrin-Salpetersäure** von P. Mayer. Man setzt zu 100 ccm gesättigter wässeriger Pikrinsäure 2 ccm offizineller Salpetersäure, filtriert nach einiger Zeit von dem allmählich entstehenden Niederschlag ab. Das Filtrat ist ohne weitere Verdünnung zum Gebrauch fertig. Anwendung wie bei § 164. Beide Flüssigkeiten fixieren besonders Mitosen gut, und dringen auch durch Chitinhüllen u. dgl. gut durch, sind aber in den meisten Fällen zweckmäßiger durch die Bouinsche Flüssigkeit zu ersetzen.

166. Pikrinsublimat. (Rabl 94.) 100 ccm gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung, 100 ccm gesättigte wässerige Sublimatlösung, 200 ccm Aqu. dest.; Fixierung 12 Stunden; dann ein paar Stunden in Wasser (besser zu vermeiden, Romeis), dann in Alkohol von anfangs schwacher, jedoch rasch ansteigender Konzentration, so daß das Präparat schon nach etwa 24 Stunden in starkem 80—90% Alkohol liegt. Jodtinkturzusatz zum absoluten Alkohol. Von Rabl für Keimscheiben und namentlich ältere Embryonen empfohlen. Schaffer (96) empfiehlt diese Lösung unverdünnt (also Pikrin-Sublimatlösung $\widehat{aa}$) für Gewebe und Organe. Fixierung 12—48 Stunden. Dann direkt in 70%—80% Alkohol, dem man Jodtinktur und Lithiumkarbonat zur Entfernung des Sublimats und der Pikrinsäure zusetzt.

Von den vom Rath (95) angegebenen Flüssigkeiten seien folgende drei erwähnt:

167. Die **Pikrinosmium-Essigsäure.** Zu 1000 ccm kaltgesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung werden 1 g Osmiumsäure und nach einigen Stunden 4 ccm Eisessig hinzugefügt. Fixierung je nach der Größe des Objektes ¼—1 oder 24 bis 48 Stunden, dann direkt in 75%igen Alkohol. (Ein anderes Rezept lautet: 200 ccm Pikrinsäurelösung, 12 ccm einer 12%igen Osmiumsäure und 2 ccm Eisessig.) Lange färben. Die Kerne und das Protoplasma werden gleichgut fixiert.

168. Die **Pikrinosmium - Platinchlorid - Essigsäure.** Zu 200 ccm wässeriger konzentrierter Pikrinsäure gieße man 25 ccm einer 2%igen wässerigen Osmiumsäure, ferner 1 g Platinchlorid in 10 ccm Wasser gelöst und schließlich 2 ccm Eisessig zu (starke Lösung). Will man eine schwache Lösung, so nehme man nur 12 ccm einer 2%igen Osmiumsäure an Stelle von 25 ccm. Einwirkung, je nach Größe des Objektes ¼ Stunde bis tagelang, im letzteren Falle muß die Flüssigkeit gewechselt werden. Übertragen in 75, dann in 95%igen und absoluten Alkohol nach eventueller 12—24stündiger Behandlung mit unreinem Holzessig. In Safranin und dann Hämatoxylin lange färben, auch ungefärbt untersuchen.

169. Pikrin-Sublimat-Osmiumsäure. Man gebe zu 100 ccm wässeriger Pikrinsäure 100 ccm Sublimatlösung und dann 20 ccm 2%ger Osmiumsäure. (Man kann auch noch 2 ccm Eisessig hinzufügen.) Nachbehandlung mit rohem Holzessig oder Tannin, Entfernung von Sublimatniederschlägen mit Jodalkohol. Lange färben.

Platinchlorid.

170. Platinchlorid wurde von Rabl (85) in einer Lösung 1:300 zur Fixierung chromatischer wie achromatischer Figuren empfohlen.

171. Besser ist die **Platinchlorid-Sublimatmischung** (Rabl 94). 1% wässerige Platinchloridlösung 10,0; gesättigte wässerige Sublimatlösung 10,0; Aqu. dest. 20,0. Anwendung wie bei Pikrinsublimat s. § 166. Große Quantitäten Fixierungsflüssigkeit! Geeignet besonders für Embryonen.

172. Platinchlorid-Chromsäure (Merckels Gemisch) besteht aus Platinchlorid 1 g, Chromsäure 1 g und 800 ccm Wasser. Fixierungsdauer mehrere Tage. Auswaschen in 50—70% Alkohol. Über Platinchlorid-Osmium-Essigsäure (Hermanns Gemisch) siehe § 158.

Sublimat.

173. Sublimat [Hydrargyrum bichloratum, Quecksilberchlorid, in dieser Gebrauchsart eingeführt von Lang

(78)] löst sich in Wasser bei Zimmertemperatur ungefähr im Verhältnis von 1:16, in absolutem Alkohol 1:3, Äther 1:4. Lösungen in destilliertem Wasser sind nach P. Mayer unbegrenzt haltbar.

Von anderen Autoren wird zu diesem Zweck Kochsalzzusatz empfohlen. Zum Fixieren benützt man gewöhnlich eine gesättigte wässerige Lösung. Man löst dazu etwa 75 g Sublimat unter Erwärmen in 1000 ccm Wasser und läßt nach Filtrieren erkalten. Gewöhnlich bilden sich dabei am Boden noch einige weiße Kristallnadeln. Fixierungsdauer je nach Größe ½—24 Stunden, bei ganz kleinen Objekten genügen wenige Minuten. Man gehe für gewöhnlich nicht über 0,4 mm Seite. Sodann Übertragen in 70% Alkohol usw. Auswaschen in Wasser ist unzweckmäßig.

174. Da die zur Fixierung verwandte Sublimatlösung für eine bestimmte Temperatur gesättigt ist, so bilden sich namentlich bei Temperaturschwankungen in den zu fixierenden Stücken leicht kristallinische und amorphe **Sublimatniederschläge**, die später in den Schnitten schwarz erscheinen und sehr störend werden können. Auch alle anderen sublimathaltigen Fixierungsgemische können die Entstehung derartiger Niederschläge veranlassen, die schon vielfach zu Mißverständnissen geführt haben und daher genau zu studieren sind.

175. Zur **Entfernung der Sublimatniederschläge** setzt man nach P. Mayer (87) am besten nach der Fixierung zum 70 und 80% Alkohol einige Tropfen Jodtinktur (Herstellung: 10 g Jod auf 100 ccm 96% Alkohol) oder alkoholisches Jodjodkali (2:3:100 ccm 90%igen Alk.), bis er kognakbraune Farbe hat. Dies wird solange wiederholt, bis die gelbe Farbe des Alkohols nicht mehr schwindet. Der bei Gebrauch von Jodtinktur manchmal entstehende rote Niederschlag löst sich in Jodkalium, s. a. P. Mayer (19a).

Die Entfernung der Sublimatniederschläge kann auch erst auf den Schnittpräparaten erfolgen, doch rät Spuler (09), sie bereits nach der Fixierung am Stück vorzunehmen.

176. Entjodung. Da Jod für die meisten Färbungen, insbesondere für Anilinfarben, sehr schädlich ist, so muß auch dieses wieder völlig entfernt werden. Heidenhain (08a) empfiehlt, die Schnitte dazu einige Minuten in einer 0,25% Natriumthiosulfatlösung zu bleichen, die man sich durch Verdünnen aus einer 2,5% Stammlösung herstellt. Spuler (10) nimmt auch die Entjodung schon am Stück vor.

177. Bei Fixierung mit sublimathaltigen Flüssigkeiten hat man metallene Instrumente zu vermeiden. Man verwende daher Hornlöffel, Glasnadeln und Holzstäbchen.

178. Sublimat allein verursacht leicht Protoplasmaschrumpfungen; die Kerne soll es ohne Zusatz jedoch nach Ansicht mancher Autoren besser fixieren als in Verbindung mit anderen Stoffen. Es läßt die meisten Färbungen zu. Neben den Schnittfärbungen gelingen besonders auch die Stückfärbungen mit Karmin (vgl. auch § 337 f.).

179. Sublimat-Kochsalzlösung wird statt mit destilliertem Wasser mit 0,5 oder 0,75% Kochsalzlösung angesetzt. Anwendung wie bei § 173.

180. »In der mit **Sublimat** gesättigten **Rohrzuckerlösung** haben wir eine für Warmblüter isotonische Fixierungsflüssigkeit gefunden, in der das Volumen der Organe so gut wie unverändert bleibt.« (Stoeltzner).

181. Nach Heidenhain (17) treten die bei Verwendung von gesättigter Sublimat- oder Sublimatkochsalzlösung häufig zu beobachtenden Schrumpfungen nicht auf, wenn man die Lösungen zur Hälfte mit Wasser verdünnt. Sehr vorteilhaft ist es, besonders bei bindegewebereichen Organen, der verdünnten Sublimatlösung 20% Formalin zuzusetzen:

Sublimat-Formol (also Sublimat 4,5; Kochsalz 0,5; Wasser 80,0; Formalin 20,0). Fixierungsdauer 2—24 Stunden, dann reiner 70% Alkohol usw.

182. Sublimatalkohol (Apathy): 3—4 g Sublimat; 0,5 g Kochsalz, 100 ccm 50% Alkohol. Fixierungsdauer 12—24 Stunden, dann wie § 181. Schaudinn verdünnt 2 Teile konzentrierte wässerige Sublimatlösung mit 1 Teil absolutem Alkohol und fixiert warm (60—70°).

183. Sublimat-Eisessig (Lang), eine gegenwärtig besonders auch für Kern- und Protoplasmastudien viel gebrauchte Flüssigkeit, welche für embryonales Gewebe und für wenig Bindegewebe enthaltende Organe Vorzügliches leistet. Zu einer gesättigten wässerigen Sublimatlösung fügt man 5—10% Eisessig. Fixierungsdauer ½ bis 6 Stunden. Übertragen in 70% Alkohol usw. Bei größeren Stücken wird Nachfixierung mit reiner Sublimatlösung angeraten.

184. Zenkersche Flüssigkeit. Zenker (94) fügt zu 100 ccm Müllerscher Flüssigkeit 5 g Sublimat und dazu vor Gebrauch 5 ccm Eisessig. (Also: 2,5 g Kaliumbichromat; 1 g Natrium sulfuric.; 5 g Sublimat; 100 ccm H_2O und 5 ccm Eisessig.) Hierin werden die Stücke je nach

ihrer Größe 1—24 Stunden fixiert; sodann wird mit fließendem Wasser ebensolange ausgewaschen und allmählich in starken Alkohol überführt (Jodzusatz!).

185. Helly setzt zur Zenkerschen Stammlösung statt Eisessig 5 ccm Formol zu. (Unmittelbar vor Gebrauch!) Man soll die Flüssigkeit nach Möglichkeit nicht länger als 6 Stunden einwirken lassen (ev. im Thermostaten fixieren). Größere Stücke fixiert man noch ca. 24 Stunden in der Flüssigkeit ohne Formolzusatz nach. Sodann sorgfältiges Auswaschen mit Wasser usw. wie bei § 184. Sowohl die Zenkersche wie die Hellysche Fixierungsflüssigkeit dringt sehr leicht in die Gewebe ein und fixiert Kern- und Protoplasmastrukturen sehr gut, ohne hiebei das Färbungsvermögen zu beeinträchtigen. (Siehe auch Mercier (94) und Spuler (10).) Für sehr wasserhaltige Gewebe ist sie weniger geeignet.

186. Maximow (09) setzt zu 100 ccm der Zenkerschen Stammlösung 10 ccm Formol. Fixierungsdauer 1—6 Stunden. In vielen Fällen empfiehlt es sich nach Maximow, zu der genannten Zenker-Formollösung noch 10 ccm einer 2% Osmiumsäurelösung zuzufügen. Die Fixierungsdauer kann dann auf 24 Stunden und mehr verlängert werden. Die Schnitte färben sich gut. Das Fett wird osmiert. Nach Fixierung in beiden Fällen gründliches Auswaschen (24 Stunden).

187. Das **Gilsonsche Gemisch** besteht aus Sublimat 20 g; 60% Alkohol 100,0; Wasser 880,0; Salpetersäure (80%; spez. Gew. 1,456) 15,0; Eisessig 4 ccm. Fixierungsdauer je nach Größe ½ Stunde bis 6 Stunden; sodann direkt in 70% Alkohol. Das Gemisch dringt sehr rasch ein und fixiert gut.

188. Petrunkewitsch empfiehlt: Wasser 300,0; absol. Alk. 200,0; Eisessig 90,0; Salpetersäure 10,0; Sublimat bis zur Sättigung. Anwendung wie bei § 187 Gilson.

Salpetersäure.

189. Eine 2—3% **Salpetersäure** (Acid. nitric. puriss. mit 70% Säuregehalt und 1,40 spez. Gewicht) fixiert, auf kleine Stücke angewandt, gut, namentlich Kernstrukturen. Fixierungsdauer: 1—6 Stunden (nicht länger, da sonst Mazeration eintritt). Nach der Fixierung übertrage man direkt in 70% Alkohol, nach 24 Stunden in 80% usw.; 5% und stärkere Lösungen verursachen, besonders an der

Oberfläche des Stückes, Schrumpfungen; Chromatin erscheint vakuolisiert (Tellyesniczky).

190. Die **Perényische** (82) Flüssigkeit hat folgende Zusammensetzung: Salpetersäure von 10% 40,0: absol. Alk. 30,0; ½% wässerige Chromsäure 30,0; sie fixiert kleine Objekte in wenigen Stunden. Auswaschen in 70% Spiritus. (Das Protoplasma wird gut erhalten, ebenso die Chromatinfäden; das Achromatin löst sich auf.) Nach P. Mayer wenig empfehlenswert.

Über die Gemische von Gilson s. § 187, Petrunkewitsch s. § 188, Pikrinsalpetersäure § 165.

Trichloressigsäure.

191. Trichloressigsäure (Holmgren, Heidenhain 05b) fixiert gut in 5—10% Konzentration und in kurzer Zeit, da sie rasch eindringt (1—24 Stunden). Nach der Fixierung behandle man die Stücke direkt mit 96% oder absolutem Alkohol, den man oft wechsle. Man vermeide Wasser, da in diesem das Bindegewebe stark quillt. Trichloressigsäure und ihre Mischungen wirken gleichzeitig auch entkalkend.

192. Heidenhain (08b) empfiehlt unter der Bezeichnung »**Subtrie**« ein Gemisch von konzentrierter Sublimatlösung 100 ccm, Trichloressigsäure 2 g, Eisessig 1 ccm. Man fixiert eine bis mehrere Stunden und überträgt dann sofort in 90% Alkohol, der einige Male gewechselt werden muß.

193. Neuerdings modifizierte Heidenhain (16) die Flüssigkeit (**Susa**) wie folgt:

Sublimat 4,5; Kochsalz 0,5; Wasser 80,0; Trichloressigsäure 2,0; Eisessig 4,0; Formalin 20,0. Nach der Fixierung wird in 90% Alkohol übertragen usw.

194. Romeis (18) fixiert in einer Mischung von gesättigter wässeriger **Sublimatlösung** 25 ccm; 5% **Trichloressigsäure** 20 ccm; **Formalin** 5 ccm. Kleine Stücke werden nach 1—2 Stunden, größere nach 3—24 Stunden in 80—90% Alkohol übertragen, der mehrmals gewechselt wird.

195. Friedenthal und Poll nehmen konzentrierte Uranylacetatlösung, 50% Trichloressigsäure und destilliertes Wasser zu gleichen Teilen. Nach der Fixierung wird im Gegensatz zu obigen Gemischen mit Wasser ausgewaschen und dann mit Alkoholen von steigender Konzentration nachbehandelt.

Fixierung durch Trocknen in der Kälte.

196. Altmann (94) empfiehlt kleine Organstückchen bei einer Temperatur von etwa — 25° C im Vakuum über Schwefelsäure vollständig zu trocknen und anschließend im Vakuum gleich mit Paraffin zu durchtränken. Nach A. bleibt dabei neben ausgezeichneter Erhaltung der Struktur auch die Reaktionsfähigkeit der Gewebe in ihrem natürlichen Zustand erhalten. Das Schwierigste ist dabei, während des mehrere Tage dauernden Trockenprozesses ein Ansteigen der Temperatur auf — 15° zu verhüten, da sonst Schrumpfungen eintreten.

5. Kapitel. Durchtränkung und Einbettung.

197. Fixierte Objekte besitzen nicht immer die zum Schneiden nötige Beschaffenheit; so sind manche so weich, daß sie dem schneidenden Messer nicht genügend Widerstand bieten, andere enthalten große Hohlräume und würden beim Schneiden auf das stärkste deformiert, wieder andere sind zu klein und zu zart, als daß man sie überhaupt mit den Fingern anfassen könnte usw. All diesen Übelständen kann man dadurch abhelfen, daß man das Objekt mit einem Medium **durchtränkt,** das nachher zu einer festen, gut schneidbaren Masse erstarrt. Dann schneidet sich das Ganze wie die Einbettungsmasse allein, vorausgesetzt, daß das Objekt nicht härter als letztere ist. Je nach der Art der zur Durchtränkung benützten Substanz werden dabei verschiedene Wege eingeschlagen. Die gebräuchlichsten Einbettungsmedien sind zur Zeit Paraffin und Celloidin. Außerdem kommt hauptsächlich noch Gelatine in Betracht.

198. Anwendung der einzelnen Medien. Für die Mehrzahl der bei histologischer und embryologischer Untersuchung verfolgten Zwecke ist **Paraffin** [zuerst Klebs (69)] das geeignetste Einbettungsmittel. Es ist unentbehrlich, wenn es sich darum handelt, sehr dünne Schnitte (1—5 μ) zu machen. Serien lassen sich rascher und leichter von Paraffinmaterial wie von Celloidinmaterial anfertigen. Ein weiterer Vorzug ist, daß die Einbettung in Paraffin rascher und einfacher vor sich geht und die in Paraffin eingebetteten Objekte beliebig lange aufgehoben werden können, ohne daß eine Änderung zu befürchten wäre.

Das Durchtränken mit **Celloidin** ist dagegen besonders bei großen Stücken (2 cm Seite und darüber) von Vorteil;

ferner bei Geweben, die durch die bei Paraffineinbettung nicht vermeidbare Erhitzung leicht zu hart werden, wie z. B. Haut, entkalkter Knochen, dicke Schichten glatter Muskulatur u. a. Für gewöhnlich sind auch die Schrumpfungserscheinungen bei Anwendung der Celloidineinbettung geringer. Von Nachteil ist, daß der Einbettungsprozeß längere Zeit beansprucht, daß sich die Celloidinblöcke nur angefeuchtet und in der Regel nicht so dünn wie Paraffinpräparate schneiden lassen. Ferner ist das Aufkleben der Präparate auf den Objektträger etwas umständlicher.

Sehr empfehlenswert ist eine Vereinigung beider Methoden, die **Celloidinparaffinmethode,** bei der die zuerst mit Celloidin durchtränkten Präparate nachträglich noch in Paraffin eingebettet werden.

Über die **Gelatineeinbettung,** welche hauptsächlich nur für spezielle Fälle in Betracht kommt, siehe § 239.

199. Verhalten verschiedener Zwischenflüssigkeiten zu Celloidin, Paraffin, Alkohol und Wasser.

Name	Celloidin	Paraffin	abs. Alkohol	Wasser
Aceton	+	+	+	+
Äther	+	+	+	12:1
Alkohol (absol.)	+	—	+	+
Anilinöl	—	+	90% Alk.	—
Benzin	—	+	+	—
Benzol	—	+	+	—
Benzylalkohol	—	+	90% Alk.	—
Bergamottöl	—	+	80% Alk.	—
Chloroform	—	+	+	—
Methylbenzoat (Ersatz f. Nelkenöl)	+	—	90% Alk.	—
Nelkenöl	+	—	90% Alk.	—
Origanumöl	—	etwas i. d. Wärme	90% Alk.	—
Paraffinöl	—	+	—	—
Petroläther	—	+	+	—
Schwefelkohlenstoff	—	+	+	—
Terpineol	—	—	90% Alk.	—
Terpentinöl	—	+	+	—
Toluol	—	+	+	—
Xylol	—	+	+	—
Zedernholzöl	—	+	95% Alk.	—

+ = mischbar: — = nicht mischbar. (Es wurde dabei nur die für die Praxis in Betracht kommende Mischbarkeit berücksichtigt.)

A. Paraffineinbettung.

a) Durchtränken mit dem Intermedium.

200. Die wichtigste Vorbedingung ist, daß die Objekte **völlig wasser- und alkoholfrei** sind. Dem Einbettungsprozeß hat infolgedessen die Entfernung des Wassers wie des Alkohols aus dem fixierten Präparat vorauszugehen. Zunächst erfolgt das erstere, und zwar dadurch, daß man die Präparate aus dem mehr oder weniger wasserhaltigen Alkohol in absoluten Alkohol überträgt, durch den sie allmählich **entwässert** werden. Da er dabei Wasser aufnimmt, muß er, um den gewünschten Zweck zu erreichen, ein- bis zweimal erneuert werden. Die Dauer des Aufenthaltes richtet sich nach der Größe und Beschaffenheit des Präparates. Vgl. auch § 224.

201. Besonders Apathy (12) hat neuerdings wieder in einer für die Einbettung und Schneidetechnik sehr wertvollen Arbeit die Notwendigkeit der Entfernung von Wasser und Alkohol betont. »...Ein tadelloses Einbetten in Paraffin läßt sich nur erzielen, wenn das Objekt vollkommen wasserfrei ist und auch vom Alkohol keine Spur enthält. Das Schrumpfen und Hartwerden, die schlechte Schneidbarkeit des Objektes in Paraffin kommt meist daher, daß es noch Wasser oder Alkohol, oft beides enthält.«

202. Entwässern des Alkohols. Läßt man 96% Alkohol mit reichlichem gebrannten Kalk (CaO) etwa 2 Tage stehen und filtriert ab, so erhält man einen mehr als 99,9%igen Alkohol, der nur minimale Spuren CaO (etwa 0,001%) enthält. Durch Destillieren statt Filtrieren lassen sich auch diese entfernen. In gleicher Weise kann man auch den käuflichen absoluten Alkohol, der meist noch 1% Wasser enthält, völlig entwässern.

203. Auch mit Calcium läßt sich der Alkohol völlig entwässern (L. W. Winkler 05).

204. Eine weitere Methode ist die Entwässerung mit chemisch reinem pulverisiertem Kupfersulfat, das bei 200° C geröstet wurde. Man schüttelt den Alkohol damit und läßt absetzen. Das Kupfersulfat färbt sich durch Aufnahme der vorhandenen Wasserspuren allmählich blau. Zur Bindung etwa auftretender freier Säurespuren setzt man etwas geschabte Kreide zu.

205. Absoluten Alkohol prüft man auf Wasserfreiheit durch Zusatz von einem Korn Calcium-Carbid; bei Wassergehalt Trübung und Gasblasen.

206. Die nicht minder wichtige **Entfernung des Alkohols** erfolgt durch Übertragen des entwässerten Objektes in eine **Zwischenflüssigkeit,** welche sich einerseits

mit Alkohol, andrerseits mit Paraffin mischt. Von den zahlreichen dazu empfohlenen Flüssigkeiten seien hier nur **Benzol, Toluol, Xylol, Petroläther** (Ligroin), **Schwefelkohlenstoff, Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform,** dann verschiedene Öle wie **Terpentinöl, Bergamottöl, Zedernholzöl** genannt vgl. auch § 199.

207. Für gewöhnliche Zwecke sowie für den Anfänger empfiehlt sich am meisten der Gebrauch von chemisch reinem wasser- und alkoholfreiem Benzol oder Toluol.

208. Benzol (Siedepunkt 80° C) hat vor **Toluol** (Siedepunkt 111°) noch den Vorzug, daß es flüchtiger ist und doch ziemlich viel Paraffin löst. Die in Benzol oder Toluol gebrachten Objekte werden nach einiger Zeit durchscheinend; tritt beim Übertragen der Präparate in Benzol eine Trübung auf oder bleiben in ihrem Innern milchige Stellen bestehen, so ist das ein Zeichen für ungenügende Entwässerung. Man bringe die Objekte in diesem Falle wieder in Alkohol zurück. Die Zeitdauer der Durchtränkung mit Benzol richtet sich nach der Größe des Objektes und schwankt zwischen einer halben und mehreren Stunden. Vgl. auch § 224.

209. Beim Übertragen des Objektes aus dem Alkohol in eines der Intermedien entstehen Diffusionsströme, die namentlich in zarten Objekten starke Schrumpfungen und Zerreißungen veranlassen können. Deshalb kann man bei dieser Prozedur gar nicht vorsichtig genug sein. Bei feineren Untersuchungen bringt man daher die Präparate nicht direkt aus absolutem Alkohol in Benzol, sondern setzt dasselbe nur allmählich dem Alkohol zu und geht erst dann zum reinen Benzol über. Oder man verwendet der Reihe nach Mischungen von absolutem Alkohol und Benzol wie 2:1; dann 1:1; 1:2, und schließlich reines Benzol.

210. Xylol ist wegen des höheren Siedepunktes (140°) weniger zu empfehlen. **Schwefelkohlenstoff** (besonders von Heidenhain und von Frederici [08] empfohlen) ist sehr gut, gegen allgemeine Verwendung spricht aber seine außerordentliche Feuergefährlichkeit (Entzündung schon bei 150°) und sein Geruch.

211. Das beste und schonendste Intermedium ist **Chloroform,** das für feine Arbeiten dem Benzol vorzuziehen ist. Nachteilig ist neben dem Kostenpunkt der Umstand, daß das im Handel erhältliche Chloroform häufig wasser- und alkoholhaltig ist. Aber auch ganz reines Chloroform zersetzt sich leicht und wird dadurch wasserhaltig. Aus

diesen Gründen ist für Anfänger und Kurszwecke das Arbeiten mit Benzol oder Toluol vorzuziehen.

212. Das hohe spezifische Gewicht des Chloroforms benützt man zweckmäßig zur allmählichen Durchtränkung des Präparates in der Weise, daß man in einem Glastubus eine Chloroformsäule mit absolutem Alkohol überschichtet und das anfangs an der Grenzfläche beider Flüssigkeiten schwimmende Präparat sich langsam im Chloroform zu Boden senken läßt. (**Senkverfahren.**) Hierauf überträgt man es noch 1—2mal in reines Chloroform. Oft kommt es vor, daß die Objekte im reinen Chloroform nicht zu Boden sinken. Man kann das dann durch Zusatz von etwas wasserfreiem Äther (ca. 1 ccm auf 100 Chloroform) oder Paraffin erreichen.

213. Um Chloroform alkohol- und wasserfrei zu machen, empfiehlt Kempf (10) es längere Zeit über Calciumchlorid stehen zu lassen, das entwässernd wirkt und zugleich den Alkohol bindet. Wegen seiner Zersetzlichkeit hebt man derartig gereinigtes Chloroform nach Filtrieren lichtgeschützt in kleinen, bis an den Hals gefüllten, braunen Glasflaschen auf.

214. Von den **Ölen** wird als Intermedium meistens **Zedernholzöl** oder **Terpentinöl** gebraucht; im Gegensatze zu den oben genannten Flüssigkeiten ist hier bei der Einbettung in Paraffin ihre völlige Entfernung nicht notwendig, da sie mit reinem Paraffin nach P. Poso (10) und Apathy (12) sogar ein gut schneidbares Gemisch bilden. Man überträgt von Zedernholzöl direkt in geschmolzenes heißes Paraffin. Wenn die Objekte im Öl schwimmen, bedeckt man sie, um einem Vertrocknen der Oberfläche vorzubeugen mit etwas ölgetränkter Watte.

215. Um beim Durchtränken und Einbetten Schrumpfungen möglichst zu vermeiden, unterschichtet O. Schultze (07) den absoluten Alkohol, in dem die einzubettenden Stücke liegen, mit Zedernholzöl. Sind dieselben dann nach einigen Stunden untergesunken, dann wird der darüber befindliche Alkohol abgesogen und das Zedernholzöl durch ganz reines ersetzt. Aus diesem kommen die Stücke direkt in Paraffin vom Schmelzpunkt 36° (von Grübler) und schließlich möglichst kurz (je nach der Größe; Retina z. B. nur für eine Minute) in Paraffin von 45—48°, in das eingebettet wird. Geschnitten muß bei ca. 10—12° C werden, unter Abkühlung der Blöcke z. B. mit Eissalzmischung o. a. § 225.

Pranther überträgt aus absolutem Alkohol für 24 Stunden in Zedernholzöl, dann 12 Stunden in Ligroin, ebensolange in Ligroin-Paraffin, dann nach ½stündigem Aufenthalt im Thermostat für 3—6 Stunden in reines Paraffin.

Große Stücke muskulöser Organe (z. B. Uterus, Herz) bringt man durch abs. Alkohol und Zedernholzöl in 2—3mal gewechseltes reines Zedernholzöl (6—10 Tage bei 37°) und von

hier in mehrmals erneuertes reines Paraffin (Schmelzp. 56°; 2—8 Tage je nach Größe). Das Öl kann man mit Chlorcalzium wieder entspriten.

b) Übertragen des Objektes in das Paraffin.

216. Ist das Objekt von dem Intermedium (Benzol, Toluol, Chloroform od. dgl.) völlig durchtränkt, so fügt man diesem im Überschuß Paraffinstückchen zu und stellt die Mischung in einer flachen Schale in den auf der Oberfläche des Wärmeofens gewöhnlich angebrachten Vorwärmer, der etwa 37—40° zeigt. Hier verdunstet ein Teil des Intermediums, während das Paraffin in das Präparat eindringt. Nach einigen Stunden (über die Zeitdauer vgl. § 224) bringt man das Objekt mit einem angewärmten Spatel in das heiße Paraffin, das in flachen Schalen im eigentlichen Wärmeofen steht. Um das vorhergehende Intermedium möglichst zu verdrängen, überträgt man das Objekt hier noch 1 oder 2mal in frisches Paraffin.

217. Von manchen Autoren wird empfohlen, die Objekte aus einer kaltgesättigten Lösung von Paraffin und Intermedium zunächst in weiches Paraffin vom Schmelzpunkt 35° und nach einigen Stunden erst in Paraffin von hohem Schmelzpunkt zu bringen.

v. Apathy (12) dagegen hält das Durchtränken mit einer Mischung von Intermedium und Paraffin oder mit Paraffin von niedrigem Schmelzpunkt für zwecklos und überträgt aus dem Intermedium gleich in das Paraffin, in dem eingebettet werden soll.

218. Paraffinsorten. Je nach der Temperatur, bei welcher man schneiden muß, und je nach der gewünschten Schnittdicke ist man gezwungen, Paraffin von verschiedenen Schmelzpunkten zu benützen, bei niederer Temperatur von 50° C, bei höherer zu 58—60° C. Für gewöhnlich ist ein Paraffin von 55—56° C zu empfehlen.

219. Durch entsprechendes Mischen von weichem (Schmelzpunkt 45—54°) und hartem (Schmelzpunkt 58—60°) Paraffin kann man den Härtegrad beliebig einstellen. Nach v. Apathy ist das gewöhnliche Paraffin des Handels für exaktes Arbeiten meist unbrauchbar, da es häufig noch gasförmige Bestandteile enthält, wodurch der Block beim Einbetten blasig, bröckelig und schlecht schneidbar wird. Man halte es sich daher im Vorrat und lasse es für längere Zeit in flachen Schalen bei 70° C stehen. Öfteres Filtrieren und Erkaltenlassen bessert seine Beschaffenheit. Am besten ist oft gebrauchtes Paraffin (Abfall und Überreste von alten Blöcken), das man vor Wiederverwendung im Wärmeofen filtriert. Van Walsem und

Kabsch (12) setzen dem Paraffin (Sch. 56°) 5% gelbes Bienenwachs zu, wodurch sich die Schneidbarkeit bessern soll.

Altmann mischt 425 g Paraffin (Schm. 60°) mit 50 g Stearin und 25 g Wachs. Das Gemisch ist besonders für dickere Schnitte (10—25 μ) gut, da die Schnitte sehr geschmeidig sind und die Masse nicht splittert. Für Schnitte unter 10 μ ziehe ich gutes, reines Paraffin ohne Beimischung vor.

220. Graf Spee (85) empfiehlt namentlich **für Bänderschneiden überhitztes Paraffin.** Darstellung: Paraffin von Schmelzpunkt 50° C wird in geschmolzenem Zustand längere Zeit erhitzt, bis es unter Entwicklung weißlicher unangenehm riechender Dämpfe eine braungelbe Farbe angenommen hat. (Auch von Grübler beziehbar.)

221. Als **Wärmeofen** oder **Thermostat** dient ein doppelwandiger mit einer Tür versehener Kasten, der durch Gas oder Elektrizität geheizt wird. Der Raum zwischen den doppelten Wänden wird mit Wasser oder Glyzerin gefüllt. Zur Konstanterhaltung der Temperatur dient ein entsprechender Thermoregulator.

222. Der **Thermoregulator** besteht in einfachster Form aus 2 Glasröhren, welche ineinandergeschoben sind, ohne sich zu berühren. Durch die innere, engere Röhre strömt Gas in die weitere, umfassende. Letztere ist oben und unten geschlossen; durch eine seitliche Öffnung strömt das Gas wieder aus zum Brenner.

Die engere Röhre reicht nicht ganz bis zum Boden der weiteren Röhre. Ein Teil der weiteren Röhre ist mit einer Flüssigkeit, z. B. Quecksilber, gefüllt. In dieses taucht man, wenn die gewünschte Temperatur des Ofens erreicht ist, die Spitze der engeren Röhre, welche schief abgeschnitten ist, ein. Steigt die Temperatur, so wird auch die Quecksilbersäule steigen und das Loch allmählich verschließen, so daß weniger Gas durchströmt. Um bei raschem Steigen und vollständigem Verschluß der Röhre ein Erlöschen der Flamme zu verhüten, befindet sich oben in der engen Röhre eine kleine Öffnung, welche stets ein sehr geringes Ausströmen des Gases gestattet. Moderne Regulatoren sind zwar nach diesem Prinzip, aber abweichend in der Ausführung gebaut.

223. Bei Gasheizung setzen sich auf dem Quecksilber des Thermoregulators mit der Zeit Verunreinigungen ab, wodurch die Genauigkeit der Temperaturregulierung beeinträchtigt wird. Quecksilber und Röhren müssen dann gereinigt werden. — Über die Mündung des Gasbrenners lege man ein Käppchen aus feinem Drahtnetz, wodurch das Zurückschlagen und Rußen der Flamme verhindert wird. — Am reinlichsten und konstantesten arbeiten elektrisch geheizte Thermostaten.

224. Die **Zeitdauer,** welche das zu durchtränkende Stück in den einzelnen Medien zu bleiben hat, richtet sich nach der Größe des Stückes. Am längsten muß es in absolutem Alkohol bleiben, um das Stück wasserfrei zu machen, und in der Benzol-Paraffinmischung, um ein möglichst vollständiges Verdunsten des Intermediums und so ein allmähliches Überführen in reines Paraffin herbeizuführen.

Die Zeit variiert je nach Größe und Dichtigkeit des Objektes. Ungefähre Zeitmaße (in Stunden) gebe folgende Tabelle:

	Kleine Objekte unter 1 mm Seite	Mittlere Objekte bis 5 mm Seite	Große Objekte über 5 mm Seite
Absol. Alkohol . . .	2—4	6—12	24
Benzol	1/2	2—4	3—6
Von jetzt ab weiter im Thermostat:			
Benzol-Paraffin bei 40° C	1	4—6	6—12
Paraffin bei 58—60° C	1/2	1—2	3—4

225. Größere Objekte müssen entsprechend länger durchtränkt werden. Nach Apathy (12) lasse man die Objekte lieber länger als zu kurz im geschmolzenen Paraffin. Wenn das Objekt gut entwässert und vor allem auch der Alkohol vollkommen entfernt ist, dann schaden auch Tage und Wochen nichts. Ist das nicht der Fall, dann allerdings wird das Resultat um so schlechter, je länger das Verweilen in reinem geschmolzenen Paraffin dauert.

c) Das Einbetten.

226. Erst wenn das Präparat völlig mit Paraffin durchtränkt ist, wird es durch Erstarrenlassen desselben **eingebettet.** Als Form benützt man für mittlere Objekte zweckmäßig zwei Doppelwinkel aus glattem Metall (⌐¬), welche auf eine glattpolierte Metallplatte (am besten Messing oder Kupfer) aufgesetzt werden. Durch gegenseitiges Verschieben der Winkel läßt sich die Größe der Form variieren. Benützt man als Unterlage eine Glasplatte, so muß man diese mit etwas Glyzerin einreiben, damit sich der Paraffinblock leicht ablöst.

227. Vielfach verwendet man auch Papier- oder Stanniolkästchen. Für sehr kleine Objekte bedient man sich mit Vorteil eines Uhrschälchens als Form. [Siehe auch § 231.]

228. Beim Einbetten verfährt man folgendermaßen: Nachdem man die Einbettungsrähmchen auf der sauber geputzten Grundplatte hergerichtet hat, erwärmt man das Einbettungsparaffin auf etwa 70° C und gießt davon sorgfältig, ohne Luftblasen mitzureißen, in die Form. Dann überträgt man mit einem über der Flamme erwärmten Metallspatel das einzubettende Präparat. Hierauf wird das Objekt **orientiert**, d. h. mit einer erwärmten Zupfnadel in die Lage gebracht, in der es hernach geschnitten werden soll. Die Orientierung ist für manche Objekte sehr notwendig, da später, wenn das Paraffin erstarrt und undurchsichtig ist, eine solche beim Einspannen in das Mikrotom (s. auch § 251) erschwert, ja bisweilen unmöglich ist. Ist das Objekt orientiert, so wartet man, bis die Oberfläche des Paraffins zu einem Häutchen erstarrt, was man durch Anblasen desselben befördern kann. Dann wird das ganze horizontal in kaltes Wasser gebracht und untergetaucht. Dabei muß das Wasser gleich von allen Seiten her rasch über die Blockoberfläche laufen. Tritt das Wasser nämlich nur von einer Ecke her langsam auf das flüssige Paraffin, so drückt es sich hier infolge seines höheren spezifischen Gewichtes in die weiche Oberfläche ein, und bohrt sich tiefe wassergefüllte Gänge meist bis in unmittelbare Nähe des Objektes. Nach etwa 15 Min. ist der Block erstarrt und mit Leichtigkeit aus der Form zu nehmen.

229. Die Temperatur des Wassers beträgt am besten 12°—15° C, bei kälterem Wasser bekommt der Block leicht Sprünge und starke Einziehungen. Das Erstarren unter Wasser ist nach Carazzi notwendig, da das langsam an der Luft erstarrende Paraffin nicht so homogen wird, und sich nicht so gut schneidet. Andere Autoren empfehlen die Form nur bis an den oberen Rand der Einbettungsrähmchen ins Wasser zu tauchen und die Oberfläche des Paraffins mit einem warmen Spatel so lange flüssig zu halten, bis es von unten her erstarrt ist. Nur auf diese Weise werden nach v. Apathy die letzten Spuren des vorausgegangenen Intermediums verdrängt.

Ich persönlich ziehe im allgemeinen das Erstarrenlassen unter Wasser vor. Es lassen sich aber mit beiden Methoden gute Resultate erreichen. Das wichtigste ist, daß das Objekt von reinem Paraffin völlig durchdrungen ist und daß das Einbettungsparaffin gut und rein

ist. Besonders bei der letztgenannten Methode ist ferner notwendig, daß sich über dem Objekt noch eine mindestens 0,5 cm breite Paraffinschicht befindet. Unbedingt schädlich für die Schnittfähigkeit ist langsames Erstarrenlassen an der Luft ohne Abkühlung von unten her.

230. Zur Erleichterung der **Orientierung** kann man auf den Boden der Form kleine, paraffindurchtränkte, dünne Papierstückchen (Zigarettenpapier), auf denen ein gerader Tuschestrich angebracht ist, legen und mit einbetten. Man orientiert dann die Objekte derart, daß die spätere Schnittebene parallel dem Tuschestrich zu liegen kommt. P. Mayer verwendet kleine Gelatineplättchen, auf die die Objekte vor der Paraffindurchtränkung mit einer Lösung von Celloidin in Methylbenzoat festgeklebt werden (16 b).

231. Kleine Objekte, die nicht orientiert werden brauchen, überträgt man nach P. Mayer aus dem absoluten Alkohol in kleine überall erhältliche Gelatinekapseln, welche man in ausgestanzte Korkstücke steckt, und behandelt die Objekte weiter, wie wenn sie in Glastuben wären. Schließlich ersetzt man nach völliger Durchtränkung das Paraffin mit Hilfe einer angewärmten Pipette durch reines Einbettungsparaffin und bringt die Kapsel in kaltes Wasser, in dem das Paraffin erstarrt und die Gelatine sich leicht ablöst (16a).

Über die Weiterbehandlung des Paraffinmaterials s. § 242.

B. Celloidineinbettung.

232. Herstellung der Celloidinlösung (nach Apathy 12). Das in Tafeln käufliche Celloidin (von Schering) muß zuerst zu kleinen Würfelchen (3—5 cmm) zerschnitten werden, die, auf einer Lage Filtrierpapier ausgebreitet, staubfrei bei Zimmertemperatur getrocknet werden. Die gelblichen, hornartigen Würfelchen können dann in einer gut verschlossenen Flasche vorrätig aufbewahrt werden. Zur Einbettung bedarf man einer 2%-, 4%- und 8%-Lösung, die man sich in Kappenflaschen mit gut eingeschliffenem Glasstopsel herstellt. Man füllt in diese soviel wasserfreien Äther-Alkohol (siehe unten), daß nur noch Raum für die zur gewünschten Konzentration nötige Menge getrockneter Celloidinstückchen bleibt, die man einzeln in die Lösung hineinfallen läßt. Nach etwa 12 Stunden kehrt man die Flasche um und stellt sie auf die Kappe, wobei das am Boden bereits gequollene Celloidin langsam unter Lösung gegen den Flaschenhals sinkt; nach weiteren 12 Stunden dreht man die Flasche wieder um und hat nun, also nach 24 Stunden, eine 2%-Lösung. Für eine 4%-

Lösung braucht man nach der gleichen Methode 2 Tage, für eine 8%- 3 Tage, während welcher Zeit man immer nach 12 Stunden die Flasche wieder umkehrt. Der Kappenschliff der Glasflaschen muß durch Vaseline abgedichtet werden.

233. Äther entwässert man am besten mit metallischem Natrium, das man in Form von Drahtspiralen auf den Boden der Flasche gibt. Die mit diesem Äther und mit absolutem Alkohol (gleiche Volumteile) hergestellte Mischung bewahrt man in gut eingeschliffenen, vaselinegedichteten Kappenflaschen auf. Wasserhaltiger Äther gibt mit der gleichen Menge Schwefelkohlenstoff geschüttelt eine Trübung. Alkoholfreier Äther muß bei Zusatz von etwas Anilinviolett in Substanz farblos bleiben.

234. Vorbereitung der Objekte. Die durch absoluten Alkohol auf das sorgfältigste entwässerten Objekte kommen zunächst in wasserfreien Äther-Alkohol, der nach einigen Stunden rasch abgegossen und durch eine 2%-Celloidinlösung ersetzt wird. Nach 24 Stunden kommen sie in die 4%- und nach weiteren 24 Stunden in die 8%-Celloidinlösung. Schwer durchdringbare Objekte müssen in der 2%—4%-Lösung mehrere Tage bis Wochen verbleiben.

235. Einbettung der Objekte. Man benützt dazu Glasdosen mit flachem Boden oder Glasringe mit eingeschliffener Boden- und Deckelscheibe. Zur Einbettung wird der Ring mit etwas Gummisyrup in der Ringfurche der Bodenscheibe festgeklebt. Dann gießt man in den Ring eine 8%-Celloidinlösung und überträgt und orientiert die Präparate. Sind dabei Luftblasen entstanden, so legt man für einige Stunden den Deckel auf die Schale. Das nun folgende Eindicken der Lösung darf nicht an der Luft erfolgen, sondern muß in einem Exsikkator vor sich gehen, in dem eine Schale mit konzentrierter Schwefelsäure aufgestellt ist. Als Exsikkator kann man z. B. auch eine auf eine Glasplatte aufgeschliffene Glasglocke benützen. Damit die Celloidinlösung gleichmäßig eindickt, ist es empfehlenswert, zeitweise auf den Einbettungsring die Deckelscheibe aufzusetzen. Ist die Celloidinlösung auf die Hälfte eingedickt, so stellt man das Einbettungsgefäß in eine gut verschließbare Schale, die etwas 70%-Alkohol enthält und härtet auf diese Weise etwa 24 Stunden mit Alkoholdämpfen an (ev. mehrmals Deckel auflegen). Endlich kommt der erstarrte Celloidinblock in den 70%-Alkohol selbst. Bei richtiger Einbettung muß sich der alkohol-

gehärtete Celloidinblock auf 5 μ schneiden lassen. Nimmt man die Entwässerung weniger genau, so gelingen meist nur 15 μ dicke Schnitte.

Die Celloidinstücke werden dann in Ziegelform zugeschnitten und in 70%-Alkohol aufgehoben (Alkoholcelloidin). Über das Aufblocken und Schneiden siehe § 244.

236. Ölcelloidinmethode. Die in Alkohol-Celloidin eingebetteten Objekte müssen feucht geschnitten werden, was verschiedene Nachteile mit sich bringt. Um dies zu vermeiden, hat man verschiedentlich versucht, den Celloidinblock statt mit Alkohol mit nicht trocknenden Ölen zu durchtränken. Die beste Methode ist die von Apathy (12): Die Einbettung geht zunächst wie beim Alkohol-Celloidin vor sich (§ 234ff). Dann wird der in 70%-Alkohol (nicht Chloroform) gehärtete Block in 90%-Alkohol gelegt. Nach 24 Stunden wird der Block in folgendem unbegrenzt haltbaren **Ölgemisch** (braune Flasche!) entwässert: 4 Gewichtsteile Chloroform, 2 Gewichtsteile Origanumöl, 4 Gewichtsteile Zedernholzöl, 1 Gewichtsteil absoluter Alkohol, 1 Gewichtsteil Karbolkristalle. Alle Bestandteile müssen wasserfrei sein. Ist der Block vollkommen durchsichtig (ohne Trübung) geworden, dann wird das Ölgemisch nach je 24 Stunden noch zweimal gewechselt. Wasserhaltig gewordenes Ölgemisch kann man durch Zusetzen von Natriumsulfat wieder entwässern. Hierauf kommen die Blöcke in wasserfreies Terpineol (von Schimmel & Co.), das zur Entfernung des Ölgemisches 1—2mal gewechselt wird. Die damit durchtränkten Blöcke werden in Terpineol oder trocken in Glastuben verschlossen aufbewahrt. Da das Celloidin durch das Öl ganz aufgehellt wird, ist es oft gut, es etwas anzufärben. Zu dem Zweck setzt man dem 70%- oder 90%-Alkohol etwas alkoholische Safraninlösung zu. (Über das Aufkleben und Schneiden der Blöcke siehe § 245, 253, 289 und 293.)

237. Eine weitere Ölcelloidinmethode ist von Lee und von Wolfrum angegeben worden. Man bettet zunächst am besten wie in § 235 geschildert in Celloidin ein, setzt aber die eingedickte Masse nicht Alkohol-, sondern Chloroformdämpfen aus. Dazu bringt man das Einbettungsgefäß in eine zweite, gut abschließbare Schale mit Chloroform am Boden. Die Dämpfe härten das Celloidin ohne Schrumpfung in etwa 12 Stunden. Die aus der gehärteten Masse ausgeschnittenen Blöcke kommen in ein Gemisch aus Chloroform

und Zedernholzöl zu gleichen Teilen; man bedecke das Gefäß mit Papier und stelle es in einen Wärmeofen bei 30—40° C. Nach 1—2 Tagen ist das Chloroform fast ganz verdunstet. Die Blöcke kommen noch auf 12 Stunden in reines Zedernholzöl. Vor dem Aufkleben läßt man den Block einige Stunden an der Luft liegen. Aufblocken nach § 245. Man schneidet trocken bei senkrechter oder leicht schräger Messerstellung, sammelt die Schnitte in 85%-Alkohol, welcher einige Male zur Entfernung des Öles gewechselt wird usw. Die durchsichtigen Blöcke werden in einer verschlossenen Schale mit etwas Zedernholzöl am Boden aufbewahrt. Die Methode läßt sich auch für makroskopische oder Lupendemonstrationen in Zedernöl verwenden. Arbeitet man bei Einbettung und Durchtränkung mit wasserfreien Reagenzien, so tritt an der Luft keine Schrumpfung der Blöcke ein; wasserhaltige Blöcke bröckeln oder schieben sich dagegen beim Schneiden und sind wenig brauchbar. (Über das Aufkleben der Schnitte siehe § 289.)

238. Celloidinparaffin. Von großem Werte ist die Celloidin-Paraffinmethode, mit deren Hilfe die Gewinnung 1 μ dicker, nicht deformierter Schnitte ohne besondere Schwierigkeit gelingt. Sie vereinigt Vorteile der Paraffineinbettung mit solchen des Celloidinverfahrens. Für zarte, bei Paraffineinbettung leicht schrumpfende Objekte ist sie ganz besonders zu empfehlen. Am besten verfährt man dabei nach den Angaben von Apathy (12): Zunächst kommen die in absolutem Alkohol völlig entwässerten Objekte wie in § 234 f. durch Alkohol-Äther in 2%-, 4%- und 8%-Celloidin. Dieses kann man noch weiter auf 16% eindicken, oder aber man stellt das Einbettungsgefäß schon mit der 8%-Lösung in eine gut verschlossene Schale, auf deren Boden etwas Chloroform ausgegossen ist. (Keine Alkoholhärtung!) Benutzt man einen Einbettungsring, so wird er bei der Par.-Cell.-Einbettung nicht mit Gummisirup, sondern mit Paraffin aufgeklebt. Durch die Chloroformdämpfe wird das Celloidin in wenigen Stunden so gehärtet, daß man es in einzelne Blöcke zurechtschneiden kann, welche dann noch auf 24 Stunden in Chloroform gebracht werden. Von hier kommen sie auf 24 Stunden zur Entfernung jeglicher Wasserspur in das in § 236 angegebene Ölgemisch, worauf wiederum dieses und der noch enthaltene Alkohol durch mehrfach gewechseltes Benzol entfernt wird. Sodann legt man den Block auf mindestens 24 Stunden in das heiße Paraffin. Zur Einbettung nimmt man den Block aus dem Paraffin, legt ihn zwischen zwei Objektträger und taucht ihn in kaltes Wasser.

Ölcelloidinblöcke (nach Apathy) können leicht in Paraffincelloidinblöcke umgewandelt werden, indem man vor der Paraffineinbettung durch Benzol das Terpineol entfernt. Die Blöcke müssen vorher aber mit dem Ölgemisch entwässert worden sein.

C. Gelatineeinbettung.

239. Hier sind hauptsächlich die Methoden von Apathy und von Gaskell anzuführen. Die letztere vermeidet jeglichen Alkohol, ferner Benzol u. dgl. sowie Erwärmung über 38°, gibt aber weniger sichere Resultate als die Apathysche Methode, bei der jedoch die Objekte bis zu 96% Alkohol kommen und auf 45—60° erwärmt werden müssen. Nach Apathy ist es allein nach diesem Einbettungsverfahren möglich, die strukturlose, interstitielle Grundgallerte vollkommen ungeschrumpft zu erhalten. Es eignet sich aber nur für kleine, höchstens 6 mm dicke Stückchen. A. empfiehlt es besonders auch für Rekonstruktionen. Man arbeitet dabei am besten mit Stückfärbung.

240. Methode von Apathy: a) Herstellung der Einbettungsmasse: 50 g Gelatine von der feinsten käuflichen Sorte in trockenen Blättern werden in 175 g destillierten Wassers und 25 g Glyzerin warm gelöst, im Thermostaten filtriert und eben dort über Chlorcalcium bis zum vollkommenen Verdunsten des Wassers eingedickt. Nach Erkalten der Masse, die warm eben noch in Faden zu ziehen ist, wird sie in kleine Würfelchen zerschnitten, die in diesem Zustand in gut verschlossener Flasche unbegrenzt aufbewahrt werden können.

b) Durchtränkung und Einbettung des Objektes: Die zuerst bis zum 96%-Alkohol durchgeführten Objekte müssen zunächst vom Alkohol befreit und allmählich in Glyzerinwasser (4 Volumteile Glyzerin, 5 Volumteile Wasser) übergeführt werden. Um Schrumpfungen zu vermeiden, kann man das Glyzerinwasser mit destilliertem Wasser, 35%-, 70%- und 90%-Alkohol überschichten und das Objekt sich allmählich herabsenken lassen. (Kann einige Tage dauern.) Schließlich wird das Glyzerinwasser zur Entfernung jeglicher Alkoholspur mehrmals gewechselt; dann setzt man zu ihm das gleiche Volumen einer Gelatinelösung, die durch Lösen von 3 Teilen der oben beschriebenen Gelatinemasse in 7 Teilen warmen Wassers hergestellt wird. Darin bleibt das Objekt im zugekorkten Tubus mindestens 24 Stunden bei 40° C. Hierauf gießt man sie in das Einbettungsgefäß, stellt es in eine große, gut verschließbare Glasschale, auf deren Boden Chlorcalcium liegt und bringt das ganze wieder in den Thermo-

staten bei 45—60°. Nun wird so lange eingedickt, bis die ursprüngliche Lösung auf die Hälfte konzentriert ist. Dann nimmt man das Gefäß aus dem Wärmeschrank und läßt die Lösung erstarren. Man bekommt so eine Masse, welche etwa 1 Teil Gelatine, 3 Teile Glyzerin und 1 Teil Wasser enthält. Für die Schnittfähigkeit ist dieses Verhältnis am günstigsten. Ist zuviel Wasser in der Masse, dann kommt es später im Alkohol zu Schrumpfungen, ist zu wenig darin, dann wird die Substanz zu hart.

Die erstarrten Blöcke schneidet man auf einer mit Paraffin. liquid. bestrichenen Glasplatte zurecht, indem man das mit Öl oder Paraffin. liq. benetzte Messer hindurchdrückt, nicht zieht. Block zweckmäßig nicht dicker als 5—6 mm. Derselbe wird dann mit einer Stecknadel auf der Unterseite eines Korkes befestigt und dieser auf einen etwa 50 ccm absoluten Alkohol enthaltenden Tubus gesetzt, so daß das Glyzerin und Wasser allmählich durch Alkohol entfernt wird. Nach 24 Stunden wird das Präparat in gleicher Weise in neuen, wasserfreien absoluten Alkohol gebracht. So wird es mehrere Tage gehärtet (für jeden Millimeter 1 Tag). Dann wird der Kork mit Block und Nadel auf einen mit Terpineol gefüllten Tubus gesetzt. Der Alkohol ist in ebensovielen Tagen durch das Öl ersetzt und der Block schnittfähig. (Über das Schneiden siehe § 246 und 261.)

Bei derartig eingebettetem Material läßt sich beim Schneiden auch bei ganz geringer Schnittdicke jegliche Deformation vermeiden, weshalb diese Methode besonders für Rekonstruktionen ausgezeichnet ist.

241. Methode von Gaskell. Feinste Gelatine wird in kleinen Stückchen kurze Zeit (ca. 3—4 Minuten bei 19° C) in destilliertem Wasser gequollen, mit der Hand ausgedrückt und in einem mit Deckel versehenen Becherglas auf dem Wasserbad verflüssigt. In diese dicke, bei 37° C zähflüssige Masse wird das einzubettende Objekt für 2—5 Stunden bei 37° C eingelegt. Sodann gießt man sie in ein geeignetes Papierkästchen und läßt bei Zimmertemperatur erstarren. Hierauf härtet man mindestens 3 Tage in Formoldämpfen, indem man die Kästchen in eine gut verschließbare Glasdose auf Holzwolle od. dgl. stellt und auf den Boden etwas Formol gießt. (Die Kästchen können hier ohne Schaden längere Zeit bleiben, für längeres Aufheben empfiehlt sich 5%-Formol). Das einzubettende, vorher fixierte Objekt muß formalinfrei gewesen sein, da sonst keine gute Durchtränkung erfolgt.

Der gehärtete Block wird zurechtgeschnitten, auf 1—2 Stunden in Wasser gelegt und sogleich auf das Gefriermikrotom gebracht, wo er sich leicht in 10 μ, ja sogar 5 μ dicke Schnitte zerlegen läßt. Die Schnitte werden in kaltem Wasser aufgefangen. Färbung mit Hämalaun von P. Mayer, wobei

sich die Gelatine nur schwach mitfärbt. Bei Färbung mit Sudan III oder Scharlach R bleibt sie farblos; ebenso wird sie nach Nilblausulfat A wieder farblos, wenn man mit 1%-Essigsäure differenziert. Eindecken mit Glyzeringelatine.

Der Wert dieser Methode beruht darin, daß jegliche Alkoholeinwirkung vermieden wird und die Fettsubstanzen ausgezeichnet erhalten bleiben. Ferner Gräff 16.

Zum Auffangen der gefrorenen Schnitte verwende ich statt Wasser eine 5%ige Formollösung.

D. Aufblocken des Objektes.

242. Das in **Paraffin** eingebettete Objekt wird mit einem Messer zu einem Würfel zugeschnitten, wobei man von 5 Seiten des rechteckigen Stückes möglichst viel überflüssiges Paraffin wegschneidet. Mit der 6. Seite wird das Stück auf ein in die Klammer des Objekthalters passendes Holz- oder Stabilitblöckchen aufgeschmolzen. (Apathy empfiehlt dazu 2—3 cm lange Zylinderstücke aus weißem Lindenholz, die man sich aus einem Stab von 1½ cm Durchmesser herstellt.) Das Aufblocken geschieht in der Weise, daß man mit einem heißen Metallspatel etwas heißes Paraffin auf das Holzblöckchen auftropft, und sodann den Paraffinblock, dessen Unterfläche mit dem heißen Spatel bestrichen wurde, rasch aufdrückt. Hierauf werden die Seitenwände mit dem heißen Spatel noch etwas angeschmolzen und das ganze in kaltes Wasser getaucht.

243. Ähnlich werden **Paraffincelloidinblöcke** aufgeblockt.

244. **Alkoholcelloidinblöcke** werden mit einer dicken Celloidinlösung aufgeklebt. Man legt dazu den Holzklotz auf kurze Zeit in Alkohol-Äther, tropft dann etwas dickflüssige Celloidinlösung auf und drückt den Celloidinblock, dessen Unterfläche kurz in Äther getaucht worden war, fest auf. Das seitlich vorquellende Celloidin kratze man ab, da reines Celloidin nach Apathy nur dann ein sicheres Aufkleben zuläßt, wenn es in äußerst dünner Schicht sofort trocknen kann. Sodann härten für einige Stunden in 70% Alkohol.

245. Viel besser ist das Verfahren von Apathy, der sowohl Alkohol — wie **Ölcelloidin** mit **Nelkenölcelloidin** aufklebt (hergestellt aus 3 Teilen einer 16%-Celloidinlösung in Äther-Alkohol und 1 Teil Nelkenöl; statt des letzteren nehme ich, um den Geruch zu vermeiden, das von P. Mayer vorgeschlagene Metylbenzoat). »Der Block

wird etwas abgetrocknet, die Aufklebefläche mit Filtrierpapier etwas abgerieben, Block und Holzblock werden mit etwas Nelkenölcelloidin bestrichen, aneinandergedrückt und etwas aneinander gerieben, um die Klebemasse gleichmäßig auszubreiten.« Nach einigen Minuten kommen Alkoholcelloidinblöcke auf 1—2 Stunden in 70% Alkohol. Ölcelloidin bleibt etwa ¼ Stunde an der Luft stehen und kommt dann auf einige Stunden in Terpineol.

246. Gelatineblöcke werden mit Gelatine, **Ölgelatineblöcke** mit Nelkenölcelloidin aufgeklebt.

6. Kapitel. **Das Mikrotom.**

247. Da das Schneiden mit dem Rasiermesser beträchtliche manuelle Geschicklichkeit erfordert und auch dann noch keine exakte Vorherbestimmung der Schnittdicke zuläßt, suchte man diesen Mängeln durch Konstruktion von Schneidemaschinen, den sog. **Mikrotomen,** zu begegnen, welche die ziemlich mühelose Herstellung aufeinanderfolgender Schnitte von genau bestimmbarer Dicke gestatten. Dieses Ziel wird bei den einzelnen Konstruktionen auf verschiedenem Wege erreicht, und zwar lassen sich hauptsächlich drei Konstruktionsprinzipien unterscheiden. Bei dem einen wird das Objekt durch Vorschieben auf einer ansteigenden Schlittenbahn gehoben und durch ein auf einer horizontalen Bahn laufendes Messer abgeschnitten; bei der zweiten Konstruktionsart erfolgt die Hebung des Objektes gleich direkt in vertikaler Richtung durch eine Mikrometerschraube; beim dritten Typus wird das Objekt an der feststehenden Messerschneide vorbeigezogen und bei jedem Schnitt um einen bestimmten Betrag vorgeschoben. Am gebräuchlichsten sind die nach den beiden erstgenannten Prinzipien gebauten Schlittenmikrotome, während das nach dem dritten Typ konstruierte Minotmikrotom hauptsächlich nur für Paraffinserien in Betracht kommt.

248. Zur Einführung für den Anfänger seien kurz die Bestandteile eines relativ einfach gebauten und doch vorzüglich arbeitenden **Schlittenmikrotomes** (nach Thoma von Jung in Heidelberg gebaut) beschrieben, zumal auch die meisten anderen Mikrotome in ähnlicher Weise konstruiert sind.

249. Bei einem Jungschen Schlittenmikrotom trägt eine senkrecht stehende Metallplatte, welche auf einer hori-

zontalen Fußplatte aufgeschraubt ist, zwei **Schlittenbahnen,** eine untere, langsam ansteigende, und eine obere, horizontal verlaufende. Auf der oberen sitzt der das Messer tragende **Messerschlitten** auf der unteren der das Objekt haltende **Objektschlitten,** der durch die Mikrometerschraube des **Mikrometerschraubenschlitten** verschoben werden kann. Messer- und Objektschlitten laufen, um die Reibung zu vermindern, mit Metall- oder Elfenbeinplättchen auf drei plangeschliffenen Schienen.

250. Auf dem **Messerschlitten** wird durch eine Flügelschraube ein **Messerhalter** befestigt, der das horizontal liegende Mikrotommesser trägt. Durch diese Vorrichtung kann die Messerschneide quer oder schräg zum Objekt eingestellt werden (vgl. § 254). Um auch ein Verstellen der Schneidefacetten des Messers zu gestatten (vgl. § 253), was für feinere Arbeiten häufig nötig wird, ist die Benützung eines sog. »verstellbaren« Messerhalters zu empfehlen.

251. Der **Objektschlitten** trägt den **Objekthalter,** im einfachsten Falle eine höher oder tiefer stellbare Klammer, in die das Objekt durch eine Schraube »eingespannt« wird. Statt der einfachen Klammer werden auch Vorrichtungen konstruiert, welche ein Verstellen und Neigen des Objektes nach allen Seiten ermöglichen. Für feinere, speziell embryologische Untersuchungen, bei welchen das Objekt genau in eine bestimmte Schnittebene eingestellt werden muß, ist ein derartiger **Orientierungsapparat** unentbehrlich.

252. Die Bewegung des Objektschlittens erfolgt durch eine **Mikrometerschraube,** welche an einem eigenen Schlitten, dem **Mikrometerschraubenschlitten,** eingelassen ist. Derselbe kann durch eine seitliche Klemmschraube an der Schlittenbahn fixiert werden. Die Achse der Mikrometerschraube trägt eine mit Gradeinteilung versehene Trommel, durch die der Betrag einer Umdrehung bestimmt werden kann. Beim Jungschen Schlittenmikrotom ist die Trommel in 15 Intervalle eingeteilt; jedes Intervall entspricht der Schnittdicke von 1/1000 mm $= 1\,\mu$; eine volle Umdrehung der Schraube ist demnach $= 15\,\mu$. Die Umdrehungsbestimmung wird an komplizierteren Modellen durch mechanische Einschnappvorrichtungen vereinfacht.

253. Die **Mikrotommesser** sind in der Regel plankonkav, die plane Seite wird dem Präparat zugekehrt.

Die Schneide der Mikrotommesser trägt zur Erleichterung des späteren Schleifens einen Facettenschliff.

Die Neigung der unteren Facettenfläche zur Oberfläche des zu schneidenden Präparates ist für die Erzielung eines schönen, nichtdeformierten Schnittes von großer Wichtigkeit. Sie ändert sich, je nachdem man Paraffin, Celloidin oder Gelatine schneidet. Für gewöhnlich muß die untere (dem Objekt zugekehrte) Facette des Messers der Objektfläche mindestens parallel sein, wenn sie beim Schneiden keinen Druck ausüben soll. Eine geringe Neigung des Messers, so daß zwischen der unteren Facette und der Schnittfläche ein kleiner Winkel (nicht über 16°!) entsteht, ist häufig von Vorteil. Benützt man einen verstellbaren Messerhalter, so ist die beste Neigung des Messers durch Probieren leicht zu ermitteln.

254. Die Messerschneide wird entweder quer oder schräg zum Objekt eingestellt. Für gewöhnlich schneidet man mit schräg gestelltem Messer; notwendig ist dies bei Celloidin, weichem Paraffin u. dgl. Je schiefer die Messerstellung, desto weniger Widerstand bietet das Messer, weil der in Betracht kommende Facettenwinkel nicht in ganzer Größe zur Wirkung kommt. Die Form der Schnitte ändert sich in weichem Paraffin am meisten, weniger in hartem Paraffin oder Celloidin.

255. Mit quergestelltem Messer (Quermesser) arbeitet man besonders beim sog. **Bänderschneiden.** Hierbei wird der Schnitt nicht vom Messer weggenommen, er bleibt vielmehr mit seinem hinteren Rande an der Messerschneide kleben und verbindet sich dann beim nächsten Schnitt mit dem vorderen Rande des folgenden Schnittes. So kann man eine ganze Reihe von Schnitten zu einem Band aneinanderkleben lassen. Notwendig ist es dabei, dem Paraffinblock eine rechteckige Form zu geben (die Schmalseiten parallel der Messerschneide). Bänderschneiden ist nur möglich bei nicht zu dicken Schnitten, sorgfältigem Einbetten in gutes Paraffin, bei geeigneter Temperatur (z. B. 19—20° C bei Paraffin von Sch. p. 58° und einer Schnittdicke von 7 μ) und mit gut geschliffenem Messer.

256. Genaueres über die Winkel der Facetten, Neigungsgrad des Messers, Schleifen und Abziehen desselben usw. bei Apathy 97 u. 12.

257. Um das **Rosten** der vor Berührung mit Säuren sorgfältig zu schützenden Messer zu verhüten, halte man sie in Etuis und reibe ihre Flächen bei längerem Nichtgebrauch mit Vaseline oder Terpineol ein.

Bei dem sehr empfehlenswerten neueren Modell H von Jung und dem Reichertschen Schlittenmikro-

tom wird der Objekthalter direkt senkrecht gehoben, was gegenüber der Verschiebung auf der schiefen Ebene Vorteile bietet. Für große, exakte Schnitte kommt besonders das ausgezeichnete Tetrandermikrotom von P. Mayer (10) in Betracht. Zur Herstellung großer Gehirnschnitte werden eigene Mikrotome konstruiert.

258. Allgemeine Vorschriften zum Gebrauch des Mikrotoms. Vor dem Gebrauche müssen die Schlittenbahnen des Mikrotoms gesäubert und mittels eines Pinsels mit Mineralöl (oder statt dessen mit einem Gemisch von 4 Teilen säurefreien Knochenöles und 1 Teil Petroleum) eingeölt werden. Der Schlitten muß leicht und gleichmäßig laufen. Die Ölschicht darf aber auch nicht zu dick sein, da sonst die Schnittdicke leicht unregelmäßig wird. Von Zeit zu Zeit putzt man die alte, mit Staub verunreinigte Ölschicht von den Schienen mit etwas Toluol od. dgl. sorgfältig weg und ölt frisch ein. Laufen die Schlitten auf Glasschienen, so wird nicht geölt. Sodann wird der nach § 242 auf einem Holzklötzchen aufgeklebte Block in den Objekthalter fest eingespannt.

Am Messerschlitten wird das Messer in entsprechender Weise befestigt. Über die Stellung des Messers, welche sich je nach dem Objekt, der Einbettungsmasse usw. ändert, vgl. auch § 253f.

Alle Schrauben müssen fest angezogen werden, so daß Objekt und Messer unbeweglich mit ihren Schlitten verbunden sind.

Jetzt wird das Objekt so weit gehoben, bis die nach oben gerichtete Seite desselben möglichst genau in der Messerhöhe liegt. Sodann zieht man das Messer versuchsweise über das Objekt hinweg, wobei man den Objektschlitten allenfalls noch ein bißchen vor- oder zurückschiebt, bis das Messer eben in die oberste Blockschicht einschneidet.

Grundregel ist: Niemals dürfen mit dem Mikrotommesser dicke Scheiben abgeschnitten werden. Will man z. B. einen Teil des durchtränkten Stückes entfernen, um aus der Mitte des Objektes Schnitte zu bekommen, so geschieht dies entweder mit einem gewöhnlichen scharfen Messer, oder man schneidet mitteldicke Scheiben allmählich mit dem Mikrotommesser ab, indem man den Objektschlitten nach jedem Schnitt um Bruchteile eines Millimeters vorschiebt, so lange, bis die gewünschte Schicht erreicht ist.

Ist so in richtiger Schnitthöhe eingestellt, so wird mit einem Messer von den Rändern des Paraffinblockes das überflüssige Paraffin weggeschnitten, etwa so weit, bis das Objekt nur mehr von einem ca. 2—3 mm breiten Mantel umgeben ist. Zweckmäßig gibt man dem Block hierbei eine rechteckige Form, wobei die Längsseiten parallel zur Schlittenbahn stehen. Nun wird der Mikrometerschraubenschlitten dem Objektschlitten so weit genähert, bis die Spitze der Mikrometerschraube den Objektschlitten berührt, und sodann der erstgenannte mittels der seitlichen Klemmschraube festgeschraubt.

Beim Schneiden zieht die rechte Hand den Messerschlitten gleichmäßig an dem seitlich angebrachten Handgriff die Schlittenbahn entlang. Niemals darf von oben her auf den Schlitten gedrückt werden, da sonst die zwischen Schlitten und Schlittenbahn befindliche Ölschicht verdrängt wird und Schneiden und Schnitt unregelmäßig werden. Die linke Hand führt einen Pinsel, um den Schnitt während des Schneidens am Aufrollen zu verhindern.

Die Pinselhaare feuchtet man zweckmässig etwas an, aber nicht mit Speichel, wie man häufig sieht, sondern mit Wasser oder schwachem Alkohol. Man nimmt am besten einen flachen Marderhaarpinsel.

Nun wird das Objekt durch Drehen der Mikrometerschraube um einen bestimmten Betrag gehoben. Anfänger beginnen wohl am besten mit 15 μ dicken Schnitten, allmählich lerne man dann auch 10 μ und dünner schneiden. Sodann zieht man langsam den Messerschlitten durch die Bahn. Sobald das Messer in den Block einschneidet, hält man die sich gewöhnlich nach aufwärts biegende Ecke des Schnittes mit der Pinselspitze frei in der Luft fest, ehe er sich aufzurollen beginnt. Der Schnitt darf nicht an das Messer angedrückt werden, da er sonst festklebt und beschädigt wird. Ebensowenig dürfen die Pinselhaare unter das Messer kommen, da dadurch die Schneide beschädigt wird. Durch Übung wird man der anfänglichen Schwierigkeiten leicht Herr.

Ist so der Schnitt gelungen, dann wird er mit dem Pinsel vom Messerrücken her gegen die Schneide zu vom Messer abgenommen, um weiter behandelt zu werden. Hierauf wird der Messerschlitten zurückgeführt, und zwar durch die ganze Bahn, um eine ungleichmäßige Abnutzung der Schienen zu vermeiden.

Hat man eine Zeitlang geschnitten, so wird die Mikrometerschraube ihre ganze Bahn durchlaufen haben und muß wiederum zurückgedreht werden. Sodann wird die seitliche Klemmschraube gelöst, der Mikrometerschraubenschlitten in der früher angegebenen Weise wieder vorsichtig an den Objektschlitten herangeschoben, bis ihn die Spitze der Mikrometerschraube wieder berührt, seitlich festgeklemmt usw. Der Objektschlitten darf währenddessen nicht bewegt werden.

Spezielle Bemerkungen.

259. In Paraffin eingebettetes Material schneidet man mit trockenem Messer. Ist das Paraffin zu weich, dann schiebt sich der Schnitt stark zusammen, ist es zu hart, dann rollt es sich oder es zerfällt in kleine Splitter. Im ersteren Fall kühlt man den Block, wenn man nicht vorzieht, ihn in härteres Paraffin umzubetten; im letzteren kann man sich häufig dadurch helfen, daß man dünner schneidet und den Block vor jedem Schnitt anhaucht. Wenn die untere Schneidefacette des Messers zu steil steht, werden die feineren Zellstrukturen leicht zertrümmert, ohne daß die äußere Form des Schnittes wesentlich beeinflußt zu sein braucht. Scharten der Messerschneide rufen im Schnitt längsverlaufende Streifen oder Risse hervor. Auch im Paraffin oder Objekt selbst gelegene Kalkkonkremente, Sandkörnchen od. dgl. können solche Erscheinungen hervorrufen. Schneidet sich das Paraffin bröselig und schmierig, so enthält es noch Reste des Intermediums oder gasförmige Bestandteile (vgl. auch § 218). Milchige, sich schlecht schneidende Stellen im Objekt selbst sind auf unzureichende Entfernung des Wassers, des Alkohols oder des Intermediums zurückzuführen. Größere Luftblasen im Objekt lassen sich nachträglich mit einigen Tropfen heißen Paraffins leicht ausfüllen (ev. Nachhelfen mit einer erwärmten Nadel).

260. Beim **Schneiden von Alkohol-Celloidin** muß sowohl Block wie Messerfläche mit 70%igem Alkohol gut befeuchtet werden, den man mit einem weichen Pinsel aufträgt.

261. Ölcelloidin nach Lee Wolfrum (§ 237), nach Apathy (§ 236) und **Ölgelatine** nach Apathy (§ 240) können trocken geschnitten werden. Man stelle das Messer nur halb so schräg wie bei Alkoholcelloidin.

Für gewöhnlich schneidet man die nach Apathy in Ölcelloidin und Ölgelatine eingebetteten Objekte feucht, d. h. man bestreicht Schnittfläche des Blockes und Messer mit Terpineol, wobei man die unbenutzten Teile des Messers mit etwas Vaseline abdeckt.

Das Gefriermikrotom.

262. Das Gefriermikrotom hat sich insbesondere, seit man statt Ätherdämpfen flüssige Kohlensäure in bequemer Weise zum Gefrieren der Präparate verwenden kann, zu einem vielfach unentbehrlichen Hilfsmittel der Mikrotechnik entwickelt. Der Vorteil der Methode liegt darin, daß sich von frischem oder fixiertem Material unter

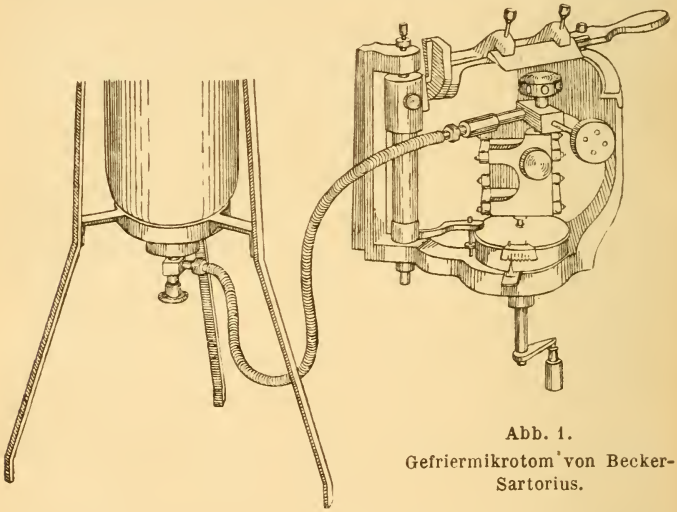


Abb. 1.
Gefriermikrotom von Becker-Sartorius.

Vermeidung einer Alkohol- usw. Behandlung Schnitte gewinnen lassen, was besonders bei Untersuchungen auf Fett und Lipoide von großer Bedeutung ist. Ganz besonderen Wert hat die Methode außerdem für praktische Zwecke (Schnelldiagnose, rasches Verarbeiten von umfangreichem Material usw.).

263. Von den vorhandenen Konstruktionen ist das Jungsche Studentenmikrotom und besonders das Gefriermikrotom von Becker-Sartorius, Göttingen, empfehlenswert (vgl. Abb. 1).

Gebrauch: Man bringt das zu untersuchende Organ aus physiologischer Kochsalzlösung (wenn frisch) oder aus destilliertem Wasser (wenn fixiert) auf den unterhöhlten Halter des Objekttisches *o*. Große Objekte schneide man vorher in 0,5—1 cm dicke Scheiben. Neben dem Mikrotom steht in einem Ständer eine nach abwärts gekehrte Kohlensäurebombe, die durch einen Schlauch mit dem Objektträger des Mikrotoms verbunden ist. Hat man das Ventil *v* geöffnet, so strömt beim Öffnen des Hebels *h* Kohlensäure gegen die Unterfläche des Objekttisches *o* und bringt das auf demselben liegende Objekt zum Gefrieren. Man läßt die Kohlensäure nicht kontinuierlich, sondern immer nur momentweise durch ruckweises Öffnen des Hebels ausströmen, so lange bis das leicht angedrückte Präparat, das man durch Auftropfen von Wasser in einen Eismantel eingeschlossen hat, völlig durchgefroren ist. Dann bringt man die Objektoberfläche durch Drehen der Kurbel *k* nach Ausschalten der Mikrometerhebung in die Höhe des in den Messerhalter *m* fest eingeschraubten Messers. Hierauf stellt man in der Skala *s* auf die gewünschte Schnittdicke ein (anfangs etwa 20 μ) und schlägt nun den Messerhalter in raschen, gleichmäßigen Zügen vor und zurück, wobei man ihn immer bis an die Ansschlagzapfen durch die ganze Bahn hindurchführt. Bei jedem Schnitt wird das Objekt automatisch um die eingestellte Mikrenzahl gehoben. Man schneidet mit trockenem Messer. Die Schnitte läßt man entweder in eine vorgehaltene, mit Wasser gefüllte Schale springen, oder man streicht sie, wenn sie am Messer kleben, mit einem Pinsel oder der Fingerkuppe vom Messer und taucht sie in Wasser, in dem sie sich ausbreiten.

Um gute Schnitte zu bekommen, darf das Präparat weder zu stark noch zu schwach gefroren sein. Im ersteren Fall zerfällt der Schnitt in kleine Splitter und das Messer bekommt leicht Scharten, im letzteren Fall wird das Präparat gequetscht und nicht geschnitten. Ist es zu stark gefroren, so wartet man kurze Zeit, bis das Präparat durch Auftauen die richtige Härte erreicht hat. Bei einiger Übung erhält man leicht 10 μ Schnitte.

264. Zum Auffangen der Schnitte nehme man destilliertes oder ausgekochtes Wasser, um das Entstehen und Ansetzen von Luftblasen zu vermeiden. Kommt der Nachweis von Fettsubstanzen nicht in Frage, so fängt

man in 70% Alkohol auf, durch den die Färbbarkeit der Schnitte vielfach gebessert wird.

265. Frische Präparate schneiden sich häufig schlecht, besonders wenn sie fetthaltig sind. Derartige Schnitte breiten sich auch nur unvollkommen aus. Wenn irgend möglich, fixiere man daher die Präparate vorher in Formol (1:10 oder 1:4) oder Orthscher Lösung. Derart fixiertes Material schneidet sich ausgezeichnet. Hedinger empfiehlt, die 24 Stunden oder länger in Formol fixierten Präparate auf 24 Stunden in 96% Alkohol zu übertragen, dann auf einige Stunden in Formol zurückzubringen und hierauf mit dem Gefriermikrotom zu schneiden. (Bei Untersuchungen auf Fett und Lipoide ist die Alkoholbehandlung natürlich nicht anwendbar.)

Präparate, die vorher in Alkohol lagen, müssen vor dem Gefrieren zur Entfernung des Alkohols mehrere Stunden in Wasser oder 4%-Formollösung gelegt werden, da sie andernfalls nicht durchfrieren.

Material, das in sublimathaltigen Flüssigkeiten fixiert wurde, eignet sich zur Herstellung von Gefrierschnitten weniger.

Über die Weiterbehandlung der Schnitte siehe § 312 u. § 313.

7. Kapitel. Das Aufkleben der Schnitte.

A. Allgemeine Bemerkungen.

266. Um eine Beobachtung des Schnittes zu ermöglichen, ist es in vielen Fällen, immer aber bei Paraffinschnitten, nötig, das Einbettungsmittel wieder zu entfernen. Dadurch verlieren die meisten Schnitte ihren Zusammenhalt. Schon deshalb ist es zweckmäßig, die Schnitte vor der Weiterbehandlung auf dem Objektträger zu befestigen: **aufzukleben.** Dies bietet u. a. auch den Vorteil, daß man eine große Anzahl von Schnitten gleichzeitig und daher rascher und zudem gleichmäßiger behandeln kann. Unerläßlich ist das Aufkleben, wenn es sich um Anfertigung sog. Schnittserien z. B. für embryologische Untersuchungen oder für Rekonstruktionen handelt.

Man hat beim Serienschneiden darauf zu achten, daß kein Schnitt verloren geht; ist dies dennoch geschehen, so ist es sofort zu notieren (etwa so, daß man im Serienkatalog einträgt: Serie 1, Objektträger 1, Schnitt 3 fehlt, oder dadurch, daß man auf dem Objektträger an Stelle des verlorenen Schnittes eine Lücke läßt.)

267. Man gewöhne sich von Anfang an, beim Aufkleben mehrerer Schnitte oder Serien die Schnitte in ganz bestimmter Ordnung aufzulegen. Für Serienschnitte erwies sich mir die in Fig. 2 gezeichnete Ordnung als die zweckmäßigste.

Fig. 2.

268. Die zur **Bezeichnung des Objektträgers** notwendigen Zeichen (Protokollnummer, Reihenfolge, Diagnose usw.) bringt man gewöhnlich auf seiner rechten Seite an. Man bedient sich dazu eines Schreibdiamantens. Weniger sind die käuflichen Glastinten zu empfehlen. Zur vorübergehenden Bezeichnung kann man einen Fettstift benutzen.

269. Kann man die Bezeichnung bereits vor dem Aufkleben der Schnitte vornehmen, so empfiehlt sich folgende, von v. Apathy angegebene Methode[1]). Man mischt flüssige schwarze Tusche (z. B. Pelikantusche) mit gleichen Teilen Eiweißglyzerin (vgl. § 278). Mit dieser Schreibflüssigkeit, welche gut verschlossen, jahrelang haltbar ist, bezeichnet man den fettfrei gereinigten Objektträger. Hierauf erhitzt man die betreffende Stelle über einer Flamme, bis weißliche Dämpfe aufsteigen; die Schriftzeichen sind dann auf dem Glas sehr fest fixiert. Das Beschriften und Erhitzen ist am besten vor dem Auflegen der Präparate vorzunehmen.

270. Wird die Bezeichnung dagegen erst nach Fertigstellung des Präparates angebracht, so überstreicht man die betreffende Stelle des Objektträgers in dünner Schicht mit einer verdünnten Lösung von 1 ccm des gewöhnlichen Kanadabalsams in 10 ccm Benzol. Man kann dann an dieser Stelle sehr gut mit Tinte oder Tusche schreiben. In Benzol, Alkohol usw. löst sich die Schrift jedoch.

271. Je nach dem Einbettungsmittel wurden verschiedene Verfahren zum Aufkleben der Schnitte ersonnen. Von den zahlreichen Methoden wähle ich im nachfolgenden hauptsächlich jene aus, die bei möglichst einfacher Technik zuverlässige Resultate geben.

B. Aufkleben von Paraffinschnitten.

α) Methoden mit Wasser.

272. Die einfachste Methode ist das **Aufkleben mit Wasser** (destilliertes Wasser, manche bevorzugen Brunnen-

[1]) Ich verdanke diese Angabe, wie auch die in § 282, 3 angegebene Methode einer brieflichen Mitteilung v. Apathys.

wasser) oder 30%igen Alkohol. Das Haften der Schnitte erfolgt dabei durch Kapillarattraktion. Man legt die Schnitte so auf den Objektträger, daß die dem Messer zugekehrte, glänzende Fläche des Schnittes auf das Glas zu liegen kommt. Zur Vermeidung von Mißerfolgen (z. B. Loslösen der Präparate beim Färben usw.) ist es nötig, absolut reine Objektträger zu verwenden. (Reinigung siehe § 37.)

273. Nehmen die Objektträger das Wasser nicht gleichmäßig an, so ist das meist ein Zeichen dafür, daß sie nicht ganz fettfrei sind. Man wasche sie dann mit Kaliseife, spüle sie gut mit Wasser ab und lege sie nach Abtrocknen auf einige Stunden in die in § 39 angegebene Flüssigkeit. Hilft auch das nicht, dann putze man sie mit etwas feiner Schlemmkreide. Mit Osmiumsäure oder Osmiumgemischen fixierte Präparate lassen sich mit reinem Wasser nur unsicher aufkleben.

274. Ausführung: Man zieht auf einem sehr sorgfältig gereinigten Objektträger mit einem in destilliertes Wasser getauchten Pinsel einen schmalen Wasserstreifen. Auf diesen legt man der Reihe nach die Paraffinschnitte auf, so daß die Ränder der am besten rechteckigen Schnitte dicht aneinanderliegen. Ist eine Reihe fertig, so zieht man dicht anschließend mit dem Pinsel einen zweiten Wasserstreifen, legt wieder die Präparate auf usf. Dabei nehme man, um ein Auseinanderschwimmen der Präparate zu vermeiden, immer nur wenig Wasser. Anderseits muß man, zumal beim Serienschneiden, so lange bis man mit dem Auflegen der Präparate fertig ist, durch zeitweises Zufügen von Wasser ein Verdunsten der Wasserschicht hintanhalten. Man fügt das Wasser nicht vom Rande her zu, sondern in der Weise, daß man einen Wassertropfen zwischen zwei Paraffinschnitte fallen läßt. Hat man die gewünschte Anzahl von Schnitten aufgelegt, dann setzt man mit dem Pinsel oder einer Pipette nochmal etwas Wasser zu und erwärmt den Objektträger vorsichtig über einer kleinen Flamme auf etwa 30—35° C, wobei sich die Schnitte glatt ausdehnen. Ein Schmelzen des Paraffins durch zu starkes Erwärmen (starke Schrumpfungen der Zellstrukturen!!) ist peinlichst zu vermeiden. Sind die Schnitte glatt, dann läßt man sie nach Ablaufen des überflüssigen Wassers vor Staub geschützt an der Luft oder in einem Thermostaten bei 30—35° C 24 Stunden lang gut trocknen. (Thermostat nicht unbedingt nötig.)

275. Das Erwärmen des Objektträgers kann man auch auf einem sog. **Wärmetisch** (s. Fig. 3) vornehmen, es läßt sich so das Schmelzen des Paraffins leichter vermeiden. Die Tisch-

platte dieses gewöhnlich aus Eisenblech gefertigten Gestelles ist an der einen Schmalseite in der gezeichneten Weise aufgebogen; durch eine darunter gestellte Flamme läßt sich dann die Temperatur der Tischplatte selbst beliebig regulieren. Den mit den Schnitten beschickten Objektträger legt man auf eine etwa 30—35° C warme Stelle der Tischplatte. Die Schnitte breiten sich dann in kurzer Zeit ganz glatt aus, worauf man das überflüssige Wasser ablaufen läßt.

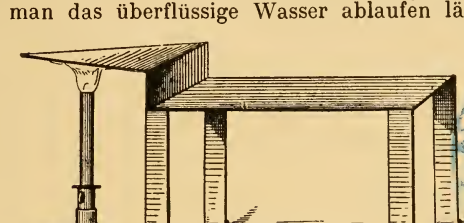


Fig. 3. Wärmetischchen nach G. Born (verkleinert 1:5).

276. Einzelne Paraffinschnitte kann man auch direkt vom Mikrotom in eine Schale mit lauwarmem Wasser (ca. 35°) übertragen und auf der Wasseroberfläche schwimmen lassen, wobei sie sich glatt strecken. Man benutze dazu ausgekochtes destilliertes Wasser, um das Auftreten lästiger Luftblasen zu vermeiden. Man fängt die Schnitte dann mit fettfrei geputzten Objektträgern auf und läßt sie antrocknen. (Siehe ferner auch § 282.) Dieses Verfahren ist besonders für große Schnitte empfehlenswert!

β) Methoden mit Eiweiß.

277. Sicherer als das Aufkleben mit reinem Wasser ist das von P. Mayer (83) eingeführte **Aufkleben mit Eiweiß,** das besonders in der Kombination mit Wasser (siehe § 282) zu empfehlen ist (insbesondere bei Chrompräparaten, die leicht abschwimmen).

278. Herstellung der Eiweißlösung: Man schüttelt das Eiweiß eines frischen Hühnereies mit der gleichen Menge chemisch reinen Glyzerins gut durch und filtriert durch ein Faltenfilter. Um ein Faulen der nur sehr langsam filtrierenden Lösung zu verhindern, setzt man sowohl zur filtrierenden Flüssigkeit wie zum Filtrat sofort ein Stückchen Kampfer oder Thymol. Auch Formolzusatz (1:100) ist zu empfehlen. Das Eiweißglyzerin hält sich, gut verschlossen, lange Zeit.

279. Statt Hühnereiweiß kann man auch eine 10%ige wässerige Lösung von Serumalbumin (Albumin. puriss. aus

Blut, Merck in Darmstadt) mit der gleichen Menge Glyzerins vermischen.

280. Trockene Aufklebemethode mit Eiweiß. Man bringt mittels eines Glasstäbchens einen kleinen Tropfen der Eiweißglyzerinlösung auf einen gut gereinigten Objektträger und verreibt ihn mit der Fingerbeere oder einem feinen Leintuch in sehr dünner Schicht. Dann legt man den aufzuklebenden Paraffinschnitt mit der glänzenden Seite nach unten auf die so präparierte Schicht auf, drückt zunächst eine Ecke des Schnittes mit einem Pinsel fest an und streicht nun vorerst ganz leicht von dieser Ecke aus über den Schnitt weg, bis er sich geglättet und entrollt hat. Dann erst drückt man den Schnitt von allen Seiten her mit dem Pinsel fest an das Glas an, so daß sich schließlich zwischen Schnitt und Glas keinerlei Luftblasen mehr befinden (sind von der Glasseite her als glänzende Stellen sichtbar). Der Objektträger liegt dabei auf dem Tisch auf dunkler Unterlage.

Nunmehr muß der Objektträger zur Koagulation der Eiweißschicht über einer kleinen Gas- oder Spiritusflamme kurze Zeit erhitzt werden, bis das Paraffin eben geschmolzen ist. Zu starke Erhitzung ist zu vermeiden, da sonst das Präparat beschädigt wird. (Die Hitze des erwärmten Objektträgers muß beim Prüfen am Handrücken noch erträglich sein.)

Derartig aufgeklebte Schnitte können dann ohne weiteres Trocknen gleich weiterbehandelt werden. Die Methode arbeitet rasch und sicher; die Präparate haften fest und lösen sich nur in starken Säuren und Alkalien. Ein Nachteil ist, daß zarte und dünne Schnitte beim Aufkleben leicht beschädigt werden, und daß sie sich unter Umständen schlecht ausbreiten lassen.

281. Zum Aufkleben wie auch zum Schneiden benutzt man flache Pinsel, am besten aus Marderhaaren.

282. Die obengenannten Fehler vermeiden die **Eiweißwassermethoden** (Henneguy, später Ikeda, daher sog. japanische Methode, und viele andere), die in zahlreichen Modifikationen existieren, wovon folgende empfohlen seien.

1. Man verreibt Eiweißglyzerin in dünner Schicht auf dem Objektträger und klebt die Präparate nach § 272 oder § 276 auf. Hierauf folgt mehrstündiges Trocknen im Thermostaten und endlich Koagulation der Eiweißschicht wie in § 280.

2. v. Apathy (12) gibt auf die gut gereinigten Objektträger etwas mit Eiweißglyzerin versetztes Wasser, legt die Schnitte auf, erwärmt sie, bis sie sich strecken, läßt den Überschuß der Flüssigkeit ablaufen und trocknet. (Eiweißglyzerinwasser: 1 Tropfen Eiweißglyzerin wird mit 4 ccm destilliertem Wasser geschüttelt.)

3. Ausgezeichnet, aber etwas umständlicher ist folgende Methode v. Apathys (s. Anm. § 269). Man verreibt einen Tropfen Eiweißglyzerins in ganz dünner Schicht auf einem Objektträger und erhitzt ihn mit der Schichtseite nach oben über einer nichtrußenden Flamme, bis weißliche Dämpfe aufsteigen. (Akroleingeruch.) Nach dem Abkühlen bringt man mit dem Pinsel etwas 30% Alkohol auf die präparierte Schicht, legt die Präparate auf, erwärmt und trocknet wie in § 274. Eine nachfolgende Koagulation durch Erhitzen ist hier unnötig.

Bei Anwendung der letztgenannten Methode ist ein Loslösen der Schnitte außerordentlich selten, weshalb sie sehr empfohlen sei. Für gewöhnlich sind aber auch die etwas rascheren Methoden nach 1 und 2 wie auch nach § 274 hinreichend.

283. Paraffincelloidinschnitte werden nach einem der in §§ 274, 276, 280 oder 282 genannten Verfahren aufgeklebt.

v. Apathy taucht kurze Zeit die Objektträger mit den aufgeklebten Schnitten in eine 0,5% Celloidinlösung in Alkohol-Äther (3:1). Nach dem Trocknen weiterbehandeln wie gewöhnlich.

γ) Besondere Aufklebemethoden.

284. Besonders bröckelige, leicht abschwimmende Paraffinschnitte, wie z. B. von stark dotterhaltigen Embryonen oder von osmiertem Material, klebt man zunächst nach einer der in § 282 genannten Methoden auf. Nach dem Trocknen wird das Paraffin zunächst durch Toluol gelöst. Dann kommen die Präparate für 2—3 Minuten in absoluten Alkohol, hierauf auf ca. 3—5 Minuten in eine ganz dünne etwa 0,5%-Lösung von Celloidin in Äther-Alkohol. Sodann läßt man die Lösung abtropfen und bringt die Präparate, bevor die Ätherlösung völlig verdunstet (Vorsicht!), in 70% Alkohol, in dem die äußerst dünne, die Präparate überziehende Celloidinschicht gehärtet wird; dann Wasser, Färbung usw.

285. Schnitte, die sehr angreifenden Prozeduren ausgesetzt werden (z. B. starken Säuren, Alkalien, Verdauungsflüssig-

keiten u. dgl.), empfiehlt Olt mit **Gelatine** aufzukleben. Man löst dazu 10 g feinster Gelatine in 100 ccm destilliertem Wasser auf dem Wasserbad, setzt zur Klärung der Lösung das Eiweiß eines Hühnereies zu und kocht 10 Minuten unter Umrühren. Zum Filtrat der heißfiltrierten Lösung fügt man 10 ccm einer 5% Karbolsäurelösung. Zum Aufkleben löst man etwa 10 g dieser beim Abkühlen erstarrenden Masse unter leichtem Erwärmen in 100 ccm destilliertem Wasser und verwendet diese wie in § 272 und § 282 an Stelle des destillierten oder des Eiweißglyzerinwassers zum Aufkleben, wobei man zum Glätten der Schnitte auch erwärmen kann. Sodann saugt man den Überschuß an Flüssigkeit mit Filtrierpapier ab und bringt die Schnitte für 1 Stunde in eine gut verschlossene Glasdose oder in einen Exsikkator, auf dessen Boden ein Schälchen mit etwas 40% Formalin steht. Nach der Einwirkung der Formalindämpfe kommen die Objektträger noch einige Minuten in 10% wässerige Formollösung. Sodann werden sie mit Filtrierpapier abgetrocknet und im Thermostaten getrocknet. Durch die Formalindämpfe wird die dünne Eiweißgelatineschicht so gehärtet, daß sich der Schnitt selbst bei Einwirken von Alkalien nicht mehr loslöst. Nachteilig ist, daß sich die Gelatine bei manchen Färbungen mitfärbt. Weitere Verwendung dieser Methode siehe § 291.

286. Szombathy (17) empfiehlt: 1. Man löst 1 Teil Gelatine in 100 Teilen destillierten Wassers bei 40° und fügt 1 Teil einer 2% Karbollösung zu. Nach Abkühlen wird filtriert und 15 Teile Glyzerin zugesetzt. Damit klebt man auf wie mit Eiweißwasser. Dann 1 Stunde in Dose mit Formoldämpfen. Oder: 2. Man verreibt etwas von obiger Gelatinelösung auf dem Objektträger. Dann fügt man 1 Tropfen einer 2% Formaldehydlösung zu, breitet ihn aus, haucht an und klebt auf. Trocknen im Thermostaten. Oder 3. Aufkleben mit 50 Teilen einer 1%igen Gelatinelösung und 50 Teilen einer 2% Formaldehydlösung. Im Thermostaten trocknen.

Die Schnitte sollen sich auch in Alkalien nicht loslösen. Die Gelatine färbt sich nicht mit.

Ich nehme als Ausgang die sterile 10% Gelatinelösung von Merck, die ich entsprechend verdünne. (Thymolzusatz.)

287. Sehr große oder viel Bindegewebe enthaltende Schnitte streckt Michaelis zunächst auf Wasser von 35—40° C, fängt sie mit dem Objektträger auf und drückt sie mit glattem Schreibpapier fest an denselben an. Dann zieht er das Papier mit dem anklebenden Schnitt ab, schneidet dasselbe dicht um denselben ab und klebt den Schnitt samt Papier unter festem Andrücken auf einen zweiten mit Eiweiß ench § 280 bestrichenen Objektträger. Sodann Koagulieren das Eiweißes durch Erhitzen usw. Beim Weiterbehandeln fällt das Papier ab.

C. Aufkleben der Celloidinschnitte.

288. Methode von Rubaschkin (07), Dantschakoff (08), **(russische Methode).** Nach der letzten Modifikation von Maximow (09) entfaltet man zunächst die in 70% Alkohol geschnittenen Schnitte auf dem Messer und überträgt sie auf dem Spatel mit möglichst wenig Alkohol auf einen mit Eiweiß-Glyzerin (2:1) beschickten Objektträger, preßt sie hier nach völligem Glätten mit mehrfach gefaltetem glatten Filtrierpapier an und übergießt sie mit reinem englischen Nelkenöl. Sind die Schnitte ganz aufgehellt (ca. 5—20 Minuten), so wird dieses abgegossen und der Objektträger in 95% oder absoluten Alkohol gestellt; nach 5—10 Minuten in eine 2. und 3. Küvette mit absolutem Alkohol, ev. zur völligen Lösung des Celloidins in Äther-Alkohol. Dann 70% Alkohol usw.

289. Nach meinen Erfahrungen lassen sich derart 5 bis 12 μ dicke Schnitte sicher aufkleben, dickere Schnitte (15 μ und mehr) schwimmen dagegen leicht ab. Die Methode läßt sich auch für **Ölcelloidinschnitte** verwenden. Man bringt die trocken oder unter Öl geschnittenen Schnitte zunächst in 90% Alkohol, ordnet sie auf den Objektträger, preßt mit Filtrierpapier an usw. Statt Nelkenöl kann man auch Methylbenzoat nehmen (vgl. § 309). Anitschkow (10a) bringt die Schnitte nach der Nelkenölbehandlung statt in Alkohol in Azeton, dann 70% Alkohol, Wasser usw.

290. Nach der **italienischen** Methode (Carazzi) bringt man die Serienschnitte zunächst vom Messer auf alkoholbefeuchtete (70%) Klosettpapierstreifen, wo man sie ordnet. Dann legt man den Papierstreifen, der nicht zu feucht sein darf, auf den Eiweißobjektträger und preßt die Schnitte fest auf. Dann vorsichtiges Abheben des Papiers, 96% Alkohol, Nelkenöl, absoluten Alkohol usw.

291. Die Olt'sche Methode (s. § 285) führt man bei Celloidinschnitten folgendermaßen aus: Man verreibt auf dem Objektträger mit dem Finger ein kleines Stückchen der Eiweißgelatine, legt auf die so präparierte Oberfläche den in 60% Alkohol aufgefangenen geglätteten Celloidinschnitt, wobei man möglichst wenig Flüssigkeit mit überträgt, drückt den Schnitt mit glattem Fließpapier gut an und setzt den Objektträger wie in § 285 Formoldämpfen aus. Dann in Wasser usw. oder wenn das Celloidin gelöst werden soll, durch 80% Alkohol in Äther-Alkohol usw.

292. Eine von Weigert (85) besonders für das Zentralnervensystem und namentlich für große Schnitte ausgearbeitete Methode läßt auch die Behandlung vieler Zelloidinschnitte auf einmal zu.

Die Schnitte werden mit Streifen aus ungeleimtem Papier (sog. Klosettpapier) in einer bestimmten Reihen-

folge aufgefangen, indem man das Papier auf die auf dem Messer befindlichen Schnitte legt; sie bleiben daran haften, und das Papier kann behutsam mit dem Schnitt abgenommen werden. Damit der Papierstreifen samt den Schnitten nicht trocknet, legt man ihn, während man den nächsten Schnitt anfertigt, auf eine mit 70%-Alkohol befeuchtete Lage von Fließpapier; mit dem nächsten Schnitt wird in derselben Weise verfahren, bis man eine gewisse Anzahl von Schnitten in einer gewünschten Reihenfolge auf dem Papier erhalten hat.

Es wird nun auf einer entsprechend großen Glasplatte dünnflüssiges Kollodium (welches man evtl. mit Schwefeläther nach Wunsch verdünnen kann) nach Art, wie es die Photographen tun, ausgebreitet. Wenn die Kollodiumschicht trocken geworden ist (ein paar Minuten genügen), drückt man die Schnitte, indem man über die Papierfläche vorsichtig mit der Hand streicht, an die dünne Kollodiumschicht an. Das Papier kann nun vorsichtig abgezogen werden, die Schnitte bleiben an der Kollodiumfläche in der Regel haften. Dieselben dürfen nicht eintrocknen und müssen deshalb mit 70%-Spiritus feucht gehalten werden. Es wird eine zweite Kollodiumschicht in einer ähnlichen Weise wie die erste auf der Glasplatte mit den Schnitten, die man zuvor mit daraufgelegtem Fließpapier getrocknet hat, ausgebreitet. Ist diese zweite Schicht ebenfalls trocken geworden, so muß man die Platte samt den Schnitten sofort in die Farbe übertragen, wo die Schnitte mit der Kollodiumschicht von der Glasplatte abgehen und miteinander weiter behandelt werden können. Vor dem Einschließen kann man die Kollodiumplatte mit der Schere beliebig zuschneiden und so, wenn nötig, einzelne Schnitte isolieren.

293. v. Apathy bringt die unter Terpineol geschnittenen **Ölparaffin-, Ölcelloidin-** oder **Ölgelatineschnitte** zunächst auf ein glattes, mit Terpineol befeuchtetes, signiertes Zigarettenpapier (Grundblatt); darüber kommt dann ein zweites, geöltes Deckblatt. Die Schnitte können so zunächst unaufgeklebt aufbewahrt werden. Zum Aufkleben legt man das Ganze mit dem Deckblatt nach unten auf eine Glasplatte, legt ein trockenes Zigarettenpapier auf und streift mit gelindem Druck darüber. Wenn sehr feucht, wiederholt man diesen Vorgang mit neuem Papier nochmals. Dann faßt man das über den Schnitten liegende Papier an einer Ecke und rollt es sorgfältig ab, wobei die Schnitte auf dem früheren Deckblatt haften bleiben. (Bleiben sie am abzunehmenden Blatt kleben, so ist es ein Zeichen, daß das Papier zu trocken war,

man feuchte es dann vorher mit Terpineol etwas an.) Nunmehr wird das Papier mit den Schnitten nach unten auf einen mit Eiweiß bestrichenen Objektträger (siehe § 280) gelegt und hier abgeklatscht. Dann legt man ein trockenes Zigarettenpapier auf, darüber einen Objektträger und bringt das Ganze auf eine auf mindestens 65° C erwärmte Metallplatte, drückt mit dem Finger etwas auf den oberen Objektträger und wartet, bis auch dieser die genannte Temperatur angenommen hat, was rasch geschieht. Zur Not kann das Erwärmen auch über einer Flamme vorgenommen werden (das Papier darf aber nicht Feuer fangen). Dann stellt man die Objektträger, ohne sie zu verschieben, noch warm, schief in Chloroformalkohol ($\widetilde{aa}$) in der Weise, daß der die Schnitte tragende Objektträger der untere ist. Nach ein paar Minuten kann man die Objektträger auseinandernehmen, wobei sich das Papier von selbst ablöst. Falls nötig, kann man dann das Celloidin durch absoluten Alkohol noch lösen usw. Will man Alkoholcelloidinschnitte nach dieser Methode aufkleben, so muß man in 90% Alkohol schneiden (geht höchstens 1 Stunde lang, dann wieder härten in 70% Alkohol), in Bergamottöl strecken, von hier auf Zigarettenpapier auffangen, mit Terpineol befeuchtetem Deckblatt bedecken usw. (Weitere Einzelheiten siehe in der Originalarbeit.) Die Schnitte müssen also bei Anwendung der Apathyschen Aufklebemethode entwässert werden, da sonst beim Erhitzen sehr starke Schrumpfungen eintreten.

D. Aufkleben der Gefrierschnitte.

294. Anitschkow (10b) fängt Gefrierschnitte aus 50% Alkohol auf den frisch mit Eiweißglyzerin bestrichenen Objektträger heraus, tropft den Alkohol ab, glättet die Schnitte mit glattem, mehrfach gefaltetem Filtrierpapier und taucht zur Gerinnung ½ Minuten in 98% Alkohol, dann 70%igen usw. (Wenn hernach Fettfärbung beabsichtigt ist, nimmt man statt 98% Alkohol eine Mischung von 50% Alkohol und Formalin (50:7,5; 1 Minute), dann Wasser.)

295. Bei Anwendung der Oltschen Gelatinemethode bringt man die Gefrierschnitte zunächst in die § 285 angegebene Lösung von 10 g Eiweißkarbolgelatine in 100 ccm Wasser und fängt sie auf dem Objektträger auf. Dann saugt man den Überschuß an Flüssigkeit ab und härtet in Formoldämpfen.

8. Kapitel. Die Weiterbehandlung aufgeklebter und unaufgeklebter Schnitte.

A. Paraffinschnitte.

296. Die aufgeklebten Paraffinschnitte bringt man zur **Paraffinbefreiung** auf kurze Zeit (2—5 Minuten

oder länger) in eines der in § 198 angegebenen Lösungsmittel, z. B. in Xylol oder Toluol. Ist das Präparat schon gefärbt und nur mit Wasser aufgeklebt, so kann es nach dem Entparaffinieren direkt in Kanadabalsam (§ 381 f.) eingeschlossen werden. Soll es erst noch gefärbt werden, dann muß zunächst das Lösungsmittel durch absoluten Alkohol entfernt werden. Aus diesem kommt es dann in 80% Alkohol und von hier in Wasser.

297. Als Gefäße benutzt man dazu zweckmäßig die in Fig. 4 abgebildeten zylinderförmigen Gläser mit Überfalldeckel; um das Umfallen zu erschweren, stellt man sie in einen entsprechend ausgebohrten Holzblock. Fig. 5 zeigt im Grundriß, wie man 6 Objektträger (je 2 mit der freien Fläche aneinandergelehnt) in einem solchen Glase unterbringen kann, ohne daß sich die aufgeklebten Schnitte berühren.

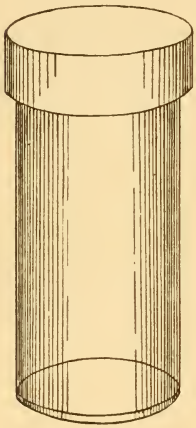


Fig. 4. Färbeglas, verkleinert $^1/_2$.

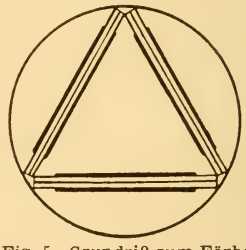


Fig. 5. Grundriß zum Färbeglas, natürliche Größe.

298. Viel im Gebrauch sind auch die meist 10—20 Objektträger fassenden Glas- oder Porzellantröge mit Rillen. Die gleichzeitige Behanddlung von 36 Objektträgern ermöglicht ein von Hauser angegebenes Metallgestell, das in entsprechend große, Glaströge gestellt wird) (erhältlich bei Wagner nnd Munz, München Karlstr. 43). Neumayer gibt eine reifartige Vorrichtung an, die die gleichzeitige Behandlung von 100—200 Objektträgern in großen runden Glasschalen ermöglicht.

299. Mit Eiweißglyzerin aufgeklebte Paraffinschnitte dürfen nach dem Lösen des Paraffins in Toluol[1]) nicht

[1]) Der Einfachheit halber nenne ich hier und im folgenden nur eines der geeigneten Lösungsmittel, statt Toluol kann man natürlich auch Benzol oder Xylol nehmen.

direkt in Balsam eingeschlossen werden, sondern müssen vorher stets noch in absoluten Alkohol kommen, um das Glyzerin zu entfernen. Man hat sonst vielfach mit schlechten Resultaten zu kämpfen, da sich das dem Aufklebeeiweiß beigemengte Glyzerin mit Toluol, Xylol usw. nicht mischt und dadurch Flecken erzeugt.

300. Beim Übertragen des Objektträgers von einer Flüssigkeit in die andere lasse man die Flüssigkeiten gut abtropfen, um die nächstfolgende möglichst wenig mit der vorausgehenden zu verunreinigen. **Dabei dürfen aber die Präparate unter keinen Umständen austrocknen,** was besonders, wenn sie aus leichtflüchtigen Medien, wie Toluol, Äther u. dgl. genommen werden, sehr leicht eintritt. Man erkennt das Austrocknen am Weißlichwerden des Präparates.

301. Nach dem Färben (siehe Kapitel 9) müssen die Präparate, falls sie in Kanadabalsam eingeschlossen werden sollen, wieder zurück in Toluol gebracht werden. Dazu müssen sie **peinlichst entwässert** werden, da durch zurückbleibende Wasserteilchen Trübungen hervorgerufen werden. Die Präparate kommen daher zunächst in 70- oder 80%-Alkohol, in 96% und dann in absoluten Alkohol, aus dem sie in Toluol o. dgl. übertragen werden. Treten dabei milchige Trübungen auf, so ist es ein Zeichen dafür, daß nicht genügend entwässert ist. Die Präparate kommen dann nochmals in den absoluten Alkohol zurück.

Bei sehr empfindlichen Präparaten nimmt man am besten 2—3 Gläser mit absolutem Alkohol und ebensoviele Portionen Toluol.

302. Um gebrauchtes **Toluol** zu **reinigen,** versetzt man es zur Hälfte mit Schwefelsäure, schüttelt durch und trennt. Die Säure wird mit Soda abgestumpft, 20 g Tierkohle auf 1 l Toluol zugesetzt und durch Faltenfilter filtriert.

303. Weiterbehandlung unaufgeklebter Paraffinschnitte. Man bringt die Schnitte direkt vom Mikrotom in ein Schälchen mit Toluol und löst das Paraffin. Soll dann gefärbt werden, so überträgt man den Schnitt mit Spatel und Nadel oder mit einem Objektträger in absoluten Alkohol, sodann in 80% und schließlich in Wasser. Bei zarten Schnitten schaltet man evtl. noch 96%, 70%, 60% und 45% Alkohol dazwischen. Nach dem Färben bringt man den Schnitt in umgekehrter Reihenfolge wieder in das Toluol zurück. Dabei achte man besonders beim Übertragen in die höherprozentigen Alkohole und in Toluol, daß der Schnitt glatt auf dem Spatel liegt, da sonst schwer entfernbare Falten entstehen. Um Schrumpfungen zu vermeiden, empfiehlt

es sich bei unaufgeklebten Schnitten oft, zum Entwässern statt absolutem Alkohol Karbolxylol (1:3) oder besser Terpineol (vgl. § 307) zu verwenden. Im allgemeinen ist das Aufkleben der Paraffinschnitte vorzuziehen.

304. Die Flüssigkeiten füllt man am besten in Schalen mit gut eingeschliffenem Rillendeckel. Man nehme sie nicht zu klein, da sonst das Auffangen der Schnitte auf den Objektträger unnötig erschwert wird (ca. 6—8 cm Durchmesser).

305. P. Mayer empfiehlt, das Paraffin vor der Färbung in bestimmten Fällen nicht zu lösen. Dasselbe macht die unaufgeklebten Schnitte gegen Verletzungen widerstandsfähiger.

Man bringt die Schnitte vom Mikrotom auf die schwach erwärmte (30—35° C) Farblösung und läßt sie hier schwimmen. Sie legen sich bald glatt und färben sich sehr gut, wenn auch etwas langsamer. Nach vollendeter Färbung werden sie gut gewaschen und mit Wasser oder Eiweißglyzerin aufgeklebt, wobei man einen Überschuß an Wasser mit Filtrierpapier absaugt. Nach dem Trocknen Weiterbehandlung wie in § 296.

Diese wichtige Beobachtung, daß Paraffinschnitte schon ohne Lösung des Paraffins für wässerige Lösungen permeabel sind, kann mit kleinen Modifikationen in verschiedenen Fällen nutzbar gemacht werden, so beim Färben von Material, das sich beim Aufkleben nur schwer glatt legt, wie z. B. Ossifikationen, Gefäße; oder bei Behandlung mit Verdauungsflüssigkeiten, mit Silbernitrat usw.

B. Celloidinschnitte.

306. Alkoholcelloidinschnitte werden meist unaufgeklebt weiterbehandelt, da das Celloidin häufig nicht entfernt zu werden braucht und den Schnitt vor Beschädigung schützt. Die Schnitte, welche vom Schneiden her mit 70% Alkohol benetzt sind, kommen zunächst in Wasser, werden gefärbt und müssen nun entwässert werden. Man bringt sie mit Nadel und Objektträger in 80 und 96%-Alkohol, sodann zur völligen Entwässerung in Karbolxylol (1:3), reines Xylol und Balsam.

307. Statt Karbolxylol, das besonders für viele Anilinfarben schädlich ist, nimmt man besser Terpineol, das Celloidin nicht löst und die Farben nicht angreift. Auch Bergamottöl, Zedernöl, Origanumöl oder synthetische Flüssigkeiten, wie Euparal, können verwendet werden. Nach dem Öl kommen die Schnitte noch in Xylol o. dgl., dann in Balsam s. a. § 190.

308. Unaufgeklebte Schnitte von **Ölcelloidin** bringt man, wenn das Celloidin erhalten werden soll, auf kurze Zeit in 96% Alkohol, dann 80% und Wasser usw.

309. Nelkenöl löst Celloidin auf. P. Mayer (16b) empfiehlt als Ersatz des unangenehm riechenden teuren Nelkenöls, das auch für viele Färbungen schädlich ist, Methylbenzoat, das sich schon mit 90% Alkohol, mit Xylol usw. und mit Kanadabalsam mischt. Es löst Celloidin, aber nicht Paraffin; mit Glyzerin mischt es sich nicht. $^nD = 1{,}57$.

310. Bei einer Reihe von Färbungen färbt sich das Celloidin so stark mit, daß es entfernt werden muß. In diesen Fällen klebt man die Celloidinschnitte nach einer der in § 288 bis § 291 angegebenen Methoden auf und kann nun ohne Nachteil das Celloidin durch Einstellen der Objektträger in Äther-Alkohol ($\overline{aa}$) entfernen; langsamer erfolgt die Lösung in absolutem Alkohol, in Nelkenöl oder in Methylbenzoat; hierauf wird das Lösungsmittel durch reinen 96% Alkohol entfernt und der Schnitt wie ein aufgeklebter paraffinbefreiter Paraffinschnitt weiterbehandelt. (§ 296.)

311. Aufgeklebte **Paraffin-Celloidinschnitte** bringt man zunächst in Toluol, absoluten Alkohol, Äther-Alkohol, 96% Alkohol usw. wie § 296, s. auch § 283.

C. Gefrierschnitte.

312. Unaufgeklebte Gefrierschnitte überträgt man aus dem destillierten Wasser in die Farblösung. Ist die Farblösung sehr dunkel und undurchsichtig, so färbt man, um die Schnitte wieder zu finden, besser in der Weise, daß man auf die auf einen Objektträger flach ausgebreiteten Schnitte einige Tropfen der Farblösung bringt. Verdunstet dieselbe leicht, so legt man den Objektträger in eine Petrischale, auf deren Boden ein angefeuchtetes Filtrierpapier liegt und deckt zu. Nach der Färbung bringt man den Objektträger mit dem Schnitt in die Waschflüssigkeit usw. Will man in Balsam einschließen, so kommen die Schnitte in 80- und 96% Alkohol. Zum völligen Entwässern nimmt man, um starke Schrumpfungen zu vermeiden, statt absoluten Alkohol Terpineol oder Karbolxylol (s. aber § 307). Sodann reines Xylol o. dgl., Balsam. Beim Übertragen von einer Flüssigkeit in die andere bringt man die Schnitte mit Hilfe einer Zupfnadel auf einen eingetauchten Objektträger, damit die Schnitte dabei möglichst glatt liegen und sich nicht falten. Denn die Schnitte werden besonders in den Alkoholen und im Xylol so hart, daß sich Falten mit Instrumenten meist nur unter schwerer Beschädigung des Schnittes entfernen lassen. Zu korrigieren ist

eine solche Faltung nur dadurch, daß man den Schnitt wieder in Wasser zurückbringt.

Die Weiterbehandlung aufgeklebter Gefrierschnitte ergibt sich aus § 294.

9. Kapitel. Die Färbung.

A. Allgemeines.

313. Die Erkenntnis, daß bestimmte Bestandteile der Zellen und der Gewebe gewisse Farben mit größerer Intensität aufnehmen und festhalten wie andere, war für die Histologie von weittragendster Bedeutung. Denn erst dadurch gelang es, die zahlreichen Strukturen, die infolge ihres Lichtbrechungsvermögens in ungefärbtem Zustand nicht oder nur undeutlich sichtbar und unterscheidbar waren, scharf hervorzuheben und voneinander zu trennen.

314. Das Ziel einer auf wissenschaftlicher Grundlage basierenden Färbetechnik wäre es, die bei den verschiedenen Färbungen stattfindenden Vorgänge klarzustellen, ein Ziel, das leider zurzeit erst für die wenigsten Fälle erreicht ist. Eine Reihe von Färbungen beruht zweifellos auf chemischen Vorgängen, so z. B. die Berlinerblau-Reaktion zum Nachweis von Eisen in Schnitten, dann die Reduktion von Osmiumsäure durch bestimmte Fette und einige andere, über welche in einem gesonderten Abschnitt berichtet werden soll. Nur in solchen Fällen ist man berechtigt, von einer **mikrochemischen Färbung** zu sprechen, während für die Mehrzahl der Färbungen diese Bezeichnung noch zu vermeiden ist.

315. Die gut ausgebildeten Färbemethoden haben dagegen den Wert von **tinktoriellen Reaktionen**, die es gestatten, Schlüsse zu ziehen, die unter Umständen an Sicherheit hinter den durch mikrochemische Reaktionen gestützten nur wenig zurückbleiben, ohne allerdings über die chemische Beschaffenheit der betreffenden Substanzen Sicheres auszusagen. Wenn es z. B. gelingt, mittels bestimmter Methoden bestimmte Gewebe und Gewebsteile, z. B. einige Kernbestandteile, Zellgranula, elastische Fasern, kollagene Bindegewebsfibrillen, Schleim u. a. so zu färben, daß stets nur diese allein gefärbt werden, so kann man mit großer Wahrscheinlichkeit darauf schließen, daß man es, wenn eine solche Färbung in einem anderen Präparate wieder auftritt, auch wieder mit demselben Gewebsteil, demselben Stoffe zu tun hat, namentlich wenn auch andere

Eigenschaften des untersuchten Objektes (Verhalten gegen Lösungsmittel, Verdauungsflüssigkeiten, optische Eigenschaften u. dgl.) übereinstimmen. Dabei ist aber stets im Auge zu behalten, daß sehr oft ganz verschiedene Gewebsteile gleiches Verhalten gegen Farbstoffe zeigen können, und daß auch die Vorbehandlung des Präparates (Fixierung usw.) eine Änderung der Reaktionen bewirken kann. Es würde daher zu falschen Resultaten führen, wollte man sich gleich färbende Dinge stets für gleich halten. Solche Schlüsse dürfen nur mit besonderer Vorsicht und auf Grund großer Erfahrung gezogen werden. Dagegen kann man mit geringen Bedenken annehmen, daß Strukturen, die sich bei gleicher Behandlung verschieden färben, auch in Wirklichkeit verschieden sind. Ebenso wie bei der Fixierung hat man auch bei der Färbung mit der Möglichkeit des Auftretens von Kunstprodukten zu rechnen, weshalb auch hier der Vergleich mit ungefärbten wie auch mit frischen, unfixierten Präparaten von großer Wichtigkeit ist.

316. Über **das Wesen der Färbung** herrschen die größten Meinungsverschiedenheiten, sowohl im allgemeinen, als auch speziell auf histologischem Gebiet. Die während der Färbung stattfindenden Prozesse sind schon als Tatsachen schwierig festzuhalten, da die Chemie und Physik der Zelle und ihrer Bestandteile hierfür noch zu wenig ausgebaut sind und zudem die in Frage kommenden Färbungen in der Regel sehr kompliziert sind. Man ist hier also vorläufig auf reine Empirie angewiesen, da die existierenden allgemeinen Theorien keinen heuristischen Wert haben; daß bei rein theoretischen Forschungen eine stattliche Anzahl praktisch wichtiger Tatsachen und ursächliche Zusammenhänge zutage gefördert worden sind, ist besonders hervorzuheben. Heidenhain (03, S. 335) leugnet die Möglichkeit der Entstehung einer Theorie der Färbung auf synthetischem Wege, weil die in Betracht kommenden Stoffe zu mannigfaltig sind. Auf alle Fälle gehören derartige Untersuchungen in die Hände »gewichtiger Fachleute der Chemie« (Heidenhain 03, c), welche, mit physikalischen Kenntnissen ausgerüstet, tüchtige Histologen sind (näheres über das Thema: Fischer (99), Heidenhain (02, 03a, b, c,) Bethe (05) ferner über die Chemie der Färbung Michaelis (02) und Pappenheim (01)). Von großer Bedeutung für die wissenschaftliche Analyse

der Färbungen dürfte in Zukunft auch die kolloidchemische Forschung sein (Bechholdt (13), Liesegang).

317. In einer sehr wertvollen Abhandlung über die **Reinheit der Farbstoffe** macht P. Mayer (18) darauf aufmerksam, daß die meisten derselben noch fremde Beimengungen enthalten. Ganz rein sind nur sehr wenige, wie Pikrinsäure, Thionin, Hämatoxylin, Alizarin. Die Mehrzahl ist mit Salzen oder Dextrin verunreinigt, »verdünnt«. Diese lassen sich, wenn nötig, meist dadurch entfernen, daß man den Farbstoff mit starkem Alkohol auszieht und das Filtrat wieder eindampft. Im übrigen scheinen diese Zusätze für die Färbung meist nicht schädlich zu sein.

318. Da von verschiedenen Fabriken unter demselben Namen oft nicht dieselben Farbstoffe in den Handel kommen, so ist zu beachten, daß sich die folgenden Angaben, wenn nicht besonderes bemerkt ist, auf Farbstoffe beziehen, welche von Dr. G. Grübler und Hollborn in Leipzig geliefert wurden.

319. Ein Übelstand ist, daß bei zahlreichen Färbungsvorschriften nur sehr ungenaue Mengenbezeichnungen gegeben werden, wie z. B. Angabe von Tropfenzahl statt cmm, oder gesättigte Lösung statt der Gewichtsmenge des gelösten Farbstoffes usw. (vgl. auch P. Mayer 18).

320. Die verschiedenen Arten der Färbung. Läßt man den Schnitt nur so lange in der (gewöhnlich sehr stark verdünnten) Farbe, bis er genügend gefärbt ist, so spricht man von **progressiver** Färbung; als **regressive** Färbung bezeichnet man es dagegen, wenn der Schnitt in der Farblösung zunächst überfärbt und der Überschuß der Farbe durch Auswaschen **(Differenzieren)** mit einer geeigneten Flüssigkeit wieder entfernt wird. Die zur Differenzierung benutzte Flüssigkeit muß nach Abschluß des Verfahrens sorgfältig entfernt, ausgewaschen werden, da sie sonst über den gewünschten Grad hinaus weiterwirkt und die Färbung unter Umständen zerstört.

321. Man unterscheidet ferner zwischen **substantiver (direkter)** und **adjektiver (indirekter)** Färbung. Tingieren sich die Objekte aus einer Farblösung unmittelbar, so färben sie sich substantiv. Wenn sie sich aber erst nach Vorbehandlung in einem anderen Stoff in der gewünschten Weise färben, dann spricht man von einer adjektiven Färbung.

322. Von der Färbetechnik her hat man diese Vorbehandlung als **Beize**, die betreffenden Farben als Beizenfarbstoffe bezeichnet, eine Benennung, die, wie P. Mayer (15) darlegt, in der Mikrotechnik nur für bestimmte Fälle richtig ist.

323. Die regressiven Färbungen geben nur in geübten Händen annähernd konstante Resultate. Für den Anfänger sind progressive Methoden mehr zu empfehlen.

Heidenhain (07) schlägt daher vor, auch mit den basischen Anilinfarben möglichst progressiv zu färben, d. h. sie sehr stark zu verdünnen und lange einwirken zu lassen.

324. Wird das Objekt noch vor dem Schneiden als ganzes Stück durchgefärbt, so spricht man von **Stückfärbung,** während die **Schnittfärbung** nach dem Schneiden an einzelnen Schnitten ausgeführt wird.

325. Die erstere gestattet rascheres Arbeiten, bei der letzteren kann dagegen die Färbung unter dem Mikroskop stets kontrolliert werden; ferner können bei Schnittfärbung an einem Objekt die verschiedensten Färbemethoden versucht werden; dann kann man sich bei ihr vieler Farben bedienen, welche zur Stückfärbung nicht angewendet werden können, vor allem gehört hierher die Mehrzahl der Mehrfachfärbungen. In gewissen Fällen lassen sich beide Methoden verbinden, so daß man dasselbe Objekt zuerst im Stück und dann im Schnitt färben kann.

326. Einfluß der Fixierung. Eine Reihe von Färbungen (insbesondere auch mit Anilinfarben) läßt sich nur dann mit vollem Erfolg ausführen, wenn das Präparat nach einer bestimmten Fixierungsmethode vorbehandelt wurde.

So kann man z. B. nach Fixierung in Flemmingscher Flüssigkeit nur schwer mit Hämalaun tingieren, während die Färbung mit Safranin oder Eisenhämatoxylin ausgezeichnet gelingt. Nach Formolfixierung hingegen färbt sich der Schnitt sehr gut mit Hämalaun, schlechter mit Safranin usw. Aber nicht nur die Fixierung, auch die übrige Vorbehandlung ist von Bedeutung. So vermindert z. B. langes Liegen in Alkohol die Färbbarkeit, insbesondere wenn vom Kork her Spuren von Gerbsäure in den Alkohol gelangen können. Ebenso wirkt langes Chromieren, lang dauerndes Entkalken u. dgl.

327. Ausführung der Färbung. Der äußerliche Vorgang der Färbung vollzieht sich meist so, daß man die Farblösung auf den Schnitt eine bestimmte Zeitdauer einwirken läßt und ihn dann in eine Flüssigkeit bringt, in welcher der überschüssige Farbstoff wieder in Lösung geht, z. B. in Wasser oder in Alkohol: man wäscht den Schnitt aus. Im Falle einer guten Kernfärbung hält dann z. B. allein das Chromatin der Kerne den Farbstoff fest.

328. Zur **Einübung der Färbetechnik** beginne man mit Hämalaun und anderen Hämatoxylin-Verbindungen. Dann erst versuche man den historisch ältesten Farbstoff, den Karmin. Hat man sich so eine gewisse Übung angeeignet, so versuche man die verschiedenen Methoden mit Anilinfarbstoffen.

329. Die Farben werden meist in wässeriger oder alkoholischer Lösung benutzt. Im ersteren Falle wer-

den die Schnitte zunächst in destilliertes Wasser und aus diesem erst in die Farblösung gebracht, da sonst unter Umständen durch Reste des Alkohols Niederschläge entstehen können. Sind die Farblösungen dagegen mit hochprozentigem Alkohol angesetzt, so kommen die Schnitte aus 90—99%-Alkohol in die Farbe.

330. Zur **Herstellung wässeriger Farblösungen** verwende man nur reines, neutral reagierendes dest. Wasser. Um Schimmelbildung zu vermeiden, setzt man der Lösung etwas Thymol, Kampher od. dgl. zu. Vor dem Gebrauch ist die Farblösung, die durch Bedecken des Farbglases vor Verdunsten zu schützen ist, zu filtrieren. Eine Reihe von wässerigen Farblösungen hält sich nur eine gewisse Zeit, weshalb man vielfach die haltbareren alkoholischen Stammlösungen herstellt und diese vor Gebrauch entsprechend verdünnt. Wieder andere werden erst nach einer gewissen Zeit zum Färben geeignet, sie müssen erst **„reifen"**, ein Prozeß, der meist in Oxydationsvorgängen besteht (z. B. beim Hämatoxylin Oxydation in Hämatein).

331. Über die Nachbehandlung nach der Färbung s. § 470—493.

B. Methoden.

1. Karmin.

332. In neuerer Zeit findet man häufig Klagen darüber, daß die jetzt erhältlichen Karmine nicht mehr das leisten wie in früheren Zeiten. Zum Teil ist dies in der Verwendung schlechter, Beimengungen enthaltender Farben begründet. Nicht verunreinigter Karmin muß sich in Ammoniak restlos lösen. Mit dem von Grübler bezogenen Karmin und Karminsäure (letztere auch von Kahlbaum) machte ich gute Erfahrungen (vgl. auch P. Mayer 18). Oft beruht eine schlechte, diffuse Karminfärbung auch auf nachfolgender ungenügender Differenzierung.

Besonders verlässige Resultate bekommt man mit den beiden folgenden haltbaren Lösungen:

333. Karmalaun nach P. Mayer (92). In 200 ccm Aqua dest. löst man unter Erwärmen 10 g Kalialaun und hierauf 1 g Karminsäure. Nach dem Erkalten filtriert man und setzt Thymol oder 1 ccm Formol zu. Schnittfärbung: 10—15 Min.; dann einige Sekunden bis Minuten in 1%-Alaunlösung und gründliches Auswaschen mit Wasser. Stückfärbung: 24—48 Stunden. Ebensolanges Auswaschen in Wasser. Resultat: kräftige, fast reine Kernfärbung.

334. Parakarmin nach P. Mayer (92) färbt noch kräftiger. Man löst unter vorsichtigem Erwärmen 1 g Karminsäure, 0,5 g Chloraluminium und 4 g Chlorkalzium in 100 ccm eines 70% Alkohols, läßt erkalten, absetzen und filtriert. Zur Färbung verdünnt man nach Krause (11) mit dem 5—10fachen Volumen 70% Alkohol und setzt auf 100 ccm etwa 2 Tropfen Essigsäure zu.

Schnittfärbung in ca. 10 Min. Auswaschen in 70%-Alkohol.

Stückfärbung in 24—48 Stunden. Dann ebensolanges Auswaschen mit 70%-Alkohol, der evtl. etwas angesäuert ist.

335. Die mit Karmalaun und Parakarmin zu färbenden Objekte dürfen nach P. Mayer nicht alkalisch reagieren oder viel Kalk enthalten, da sonst Farbniederschläge entstehen. Feine Skeletteile, Kalknadeln u. dgl. werden gelöst. Bei Überfärbung und für reine Kernfärbung wasche man in 2%-Essigsäure (in 70%-Alkohol) aus, dann Entfernung der Säure durch 70%-Alkohol oder Wasser. Da die Parakarminlösung alkoholisch ist, brauchen die mit ihr zu färbenden Präparate nicht mit Wasser in Berührung zu kommen, was unter Umständen von Wert ist.

Weitere Karminlösungen sind:

336. Alaunkarmin (Grenacher): Man löst 3—5 g Kali- oder Ammoniakalaun in 100 ccm Aqua dest., setzt 1 g Karmin zu und kocht anhaltend 15 Minuten lang; nach dem Erkalten wird filtriert. Zusatz von 1 ccm Formol. Färbung: Schnitte kommen aus Aqua dest. auf ½ bis 24 Stunden in die Farbe und werden dann in dest. Wasser so lange gewaschen, bis keine Farbwolke mehr abgeht. Für Stückfärbung weniger geeignet. Resultat: fast ausschließlich Kernfärbung.

337. Für **Stückfärbung** ist besonders die alkoholische **Boraxkarminlösung** zu empfehlen. 4 g Borax werden mit 2—3 g Karmin in der Reibschale verrieben, in 93 ccm dest. Wassers gelöst und mit 100 ccm 70%-Alkohols versetzt. Nach öfterem Schütteln wird nach Ablauf von 24 Stunden dekantiert und filtriert. 0,5—1 ccm große Stücke werden nach Fixierung und Auswaschen aus 70%-Alkohol auf 24 Stunden in die Farblösung übertragen, größere entsprechend länger. Hierauf kommen sie sofort (ohne mit Wasser in Berührung zu kommen) in salzsäurehaltigen 70%-Alkohol (0,5—1% Salzsäure), worin sie so lange bleiben, bis keine Farbwolken mehr abgehen (24 Stunden und länger). Sodann gründliches Auswaschen in 70%-Alkohol, dann 80%-Alkohol usw. Sublimatfixiertes Material ist für diese Färbung, welche exakte Chromatinfärbung liefert, besonders geeignet.

338. Zur Herstellung der **wässerigen Boraxkarminlösung** verreibt man 2—3 g Karmin mit 8 g Borax und setzt 130 ccm dest. Wasser zu. Nach 24 Stunden wird filtriert. Färbung wie oben. Die wässerige Lösung ist weniger zu empfehlen, da sie leicht mazeriert.

339. Lithionkarmin (Orth): 2,5—5 g Karmin werden unter Aufkochen in kaltgesättigter wässeriger Lösung von Lithionkarbonat gelöst. Nach Erkalten wird filtriert. Schnittfärbung: 2—5 Minuten. Sodann Differenzieren in Salzsäurealkohol, 15 Minuten bis 24 Stunden. Auswaschen in Wasser usw.

Die Lösung färbt intensiv und rasch und gibt auch bei Präparaten, die sich infolge ihrer Fixierung mit den anderen Karminen weniger gut färben, schöne Resultate. Für Stückfärbung zarter Objekte ist sie jedoch weniger zu empfehlen, da sie infolge des starken Alkaligehaltes leicht mazerierend wirkt.

340. Cochenilletinktur nach P. Mayer (81): 10 g pulverisierte Cochenille extrahiert man mehrere Tage lang mit 100 ccm 70%-Alkohol ohne Erwärmen, schüttelt die Tinktur öfter um und filtriert endlich ab. Die Objekte kommen aus 70%-Alkohol je nach der Größe auf Stunden bis Tage in die Farbe und werden dann mit 70%-Alkohol sorgfältig ausgewaschen. Die Färbung ist meist weniger scharf als bei den guten Karminlösungen, insbesondere, wenn die Objekte von der Fixierung her noch sauer reagieren. S. ferner § 1444.

Weitere, meist entbehrliche Cochenilletinkturen s. Rabl (94), Spuler (01).

2. Hämatoxylin.

341. Das **Hämatoxylin** bildet mit seiner Einführung in die Mikrotechnik durch Waldeyer den Ausgangspunkt der wertvollsten Färbemethoden. Der Farbstoff wird durch Ätherextraktion aus Blauholz gewonnen; er bildet farblose, in Wasser, Glyzerin und Alkohol lösliche Kristalle.

342. Die mit Hämatoxylin hergestellten Farblösungen erlangen ihr Färbungsvermögen vielfach erst nach einiger Zeit, sie müssen **„reifen"**. Damit bezeichnet man die Umwandlung des Hämatoxylins in Hämatein, zu dem das Hämatoxylin durch Wasserstoffabgabe oxydiert wird. Das **Hämatein** ist also, meist in Verbindung mit Tonerde, die eigentliche bei der Färbung wirksame Substanz (P. Mayer (15) und früher). Durch Zusatz kräftiger Oxydationsmittel, wie z. B. von Wasserstoffsuperoxyd oder übermangansaurem Kali kann man den Oxydationsprozeß, der, sich selbst überlassen, mehrere Wochen beansprucht,

sehr beschleunigen. Im übrigen ist das Hämatein auch schon direkt als Hämatein. cristallisat. im Handel erhältlich.

343. Von den zahlreichen mit Hämatein hergestellten Farblösungen sollen nachfolgend nur die wichtigsten und allgemein gebräuchlichsten angeführt werden (Literatur über Hämatein insbesondere: P. Mayer und Rost). Besonders empfohlen sei das Hämalaun von P. Mayer und die saure Hämatoxylinlösung von Ehrlich.

344. Vortrefflich und auch für den Anfänger sehr zu empfehlen ist das von P. Mayer (91, 92) angegebene **Hämalaun,** das sofort nach dem Bereiten benutzt werden kann und (namentlich verdünnt) nicht leicht überfärbt. Herstellung: 1 g Hämatein wird in 50 ccm Alkohol von 90% unter Erwärmen gelöst und zu einer Lösung von 50 g Alaun in 1 l dest. Wassers gegossen. Thymolzusatz. Nach Erkalten filtrieren. (Die Farbe ist bei Grübler auch schon zusammengesetzt in Substanz käuflich, so daß man nur in Wasser 1:20 zu lösen braucht.) Schnittfärbung: Die Schnitte kommen aus dest. Wasser auf etwa 3—5 Min. in die Farne, bis die Kerne gut gefärbt sind (**kontrollieren!**). Sodann wird mindestens 10 Min. in mehrfach gewechseltem oder in fließendem Brunnenwasser ausgewaschen, da erst dadurch der tiefblaue Ton der Färbung in voller Stärke hervortritt. Resultat: Kernchromatin tiefblau, Knorpel blau, das übrige Gewebe ungefärbt oder etwas graublau.

Auch Stückfärbung ist mit Hämalaun möglich. Dauer 24—48 Stunden, dann ebensolange Auswaschen mit dest. Wasser. Die Farblösung ist etwa ein Jahr lang brauchbar. Doch geben Lösungen, die älter als ½ Jahr sind, keine so reinen Kernfärbungen mehr wie frische. Auch nimmt die Färbekraft so sehr zu, daß leicht Überfärbung eintritt.

345. Man färbt mit Hämalaun am besten **progressiv** (vgl. § 320), da sich eine Überfärbung mit Hämalaun ebenso wie bei den anderen Hämatoxylin-Lösungen durch einfaches Auswaschen nicht verbessern läßt. Man kontrolliert also zeitweise den Stand der Färbung, indem man den Schnitt aus der Farbe nimmt, in Wasser abspült, unter dem Mikroskop betrachtet und, falls die gewünschte Intensität der Färbung erreicht ist, dieselbe unterbricht. Andernfalls kommt der Schnitt wieder in die Farbe zurück.

346. Eine **Überfärbung** läßt sich dadurch **korrigieren,** daß man das Präparat in eine schwache Säure bringt (z. B. in 0,1%-Salzsäure). Der Schnitt wird dann rötlich und ver-

liert Farbe. Wenn der richtige Färbungsgrad erreicht ist, muß äußerst sorgfältig mit Brunnenwasser ausgewaschen werden, da selbst geringste zurückbleibende Säurespuren die Färbung allmählich zerstören. Zweckmäßig bringt man dann die Schnitte noch in 70%-Alkohol, dem etwas Natriumbikarbonat oder Ammoniak (etwa 0,1%) zugesetzt ist. Am besten ist es aber, eine Überfärbung einfach zu vermeiden.

347. Will man eine ganz reine Kernfärbung, dann bringt man den Schnitt nach der Färbung kurze Zeit in 0,5—5%-Alaunlösung und wäscht dann sorgfältig in fließendem Wasser aus. Auch zur Korrektion von Überfärbung kann man die Alaunlösung benutzen.

348. Nelkenöl und Bergamottöl schädigen die Haltbarkeit der Färbung und sind daher zu vermeiden.

349. Neuerdings löst P. Mayer (04) zur Herstellung von Hämalaun 1 g Hämatoxylin in 1 l Wasser und gibt 50 g Alaun und zur Oxydation 0,2 g Natriumjodat ($NaJO_3$) zu. Mehrmals schütteln. Nach völliger Lösung wird filtriert.

350. Hämateinlösung I A nach Apathy (97a) besteht aus gleichen Teilen von a) Glyzerin, b) 9 g Alaun, 3 ccm Eisessig und 0,1 g Salizylsäure auf 100 ccm dest. Wasser und c) 1%-Hämatoxylinlösung in 70%-Alkohol, welche 6—8 Wochen lang gestanden (gereift) hat. Statt c) nimmt P. Mayer (01) eine 1%-Hämateinlösung. Brauchbar für Schnitt- und Stückfärbung. Nach dem Färben wird sorgfältigst mit Wasser ausgewaschen. Die Lösung färbt außer Chromatin häufig auch noch andere Gewebsstrukturen. Das Gemisch ist jahrelang haltbar.

351. Delafieldsches Hämatoxylin (s. Prudden 85). Man löst 4 g Hämatoxylin in 25 ccm absoluten Alkohols und setzt diese Lösung zu 40 ccm einer gesättigten wässerigen Lösung von Ammoniakalaun (d. h. etwa 40 g Ammoniakalaun auf 400 ccm Wasser). Nach 3—4 Tagen, während deren man die Flüssigkeit offen und dem Licht ausgesetzt stehen läßt, filtriert man und gießt je 100 ccm Glyzerin und Methylalkohol zu. Nach einigen Tagen wird abermals filtriert. Zur Färbung verdünnt man ziemlich stark mit Wasser. Sodann Auswaschen mit Wasser. Die Farblösung ist nicht sehr lange haltbar.

352. Friedländersches Hämatoxylin. Eine Lösung von 2 g Hämatoxylin in 100 ccm absoluten Alkohols kommt zu 100 ccm dest. Wasser, 100 ccm Glyzerin und 2 g Kalialaun.

353. Ehrlich (86) setzt zu dieser Lösung noch 10 ccm Eisessig. Dadurch wird eine Überfärbung vermieden. Schnitt- und Stückfärbung wie in § 344. Die Schnitte

sehen, aus der Farbe genommen, rotviolett aus und bläuen sich erst beim Auswaschen, was beim Kontrollieren der Färbung zu beachten ist. Diese jahrelang haltbare Farblösung liefert sehr schöne Kernfärbungen.

Sowohl das Friedländersche wie das Ehrlichsche Hämatoxylin muß vor Gebrauch mindestens 14 Tage lang in unbedecktem Gefäß reifen. Nimmt man statt Hämatoxylin 2 oder besser nur 1 g Hämatein, so sind die Lösungen sofort gebrauchsfertig.

354. Hämatoxylinalaun nach Böhmer. Die Mengenbezeichnung in der Originalvorschrift ist sehr ungenau. Am besten löst man 1 g Hämatoxylin in 10 ccm 96 %-Alkohol und schüttet diese nach Lösung in eine 10%ige filtrierte Kalialaunlösung. Reifen der Lösung wie in § 353 nötig.

355. Hansen (95) beschleunigt die Oxydation des Hämatoxylins durch Zusatz von Kaliumpermanganat. a) 1 g Hämatoxylin wird in 10 ccm absoluten Alkohols gelöst; b) 20 g Kalialaun in 200 ccm warmen dest. Wasser; nach Abkühlen wird filtriert; am folgenden Tag mischt man a) und b) in einer Porzellanschale, gießt 3 ccm einer kaltgesättigten wässerigen Kaliumpermanganatlösung dazu und erwärmt unter stetem Umrühren bis zum Sieden. Nach ½ bis 1 Min. kühlt man rasch ab und filtriert.

356. Unna nimmt zur Beschleunigung der Oxydation Wasserstoffsuperoxyd.

357. Während die genannten Hämatoxylinlösungen bei richtiger Anwendung hauptsächlich reine Chromatinfärbungen geben, lassen sich mit den nachfolgenden Hämatoxylinlösungen auch noch zahlreiche andere Gewebsbestandteile färben. Die wichtigste von ihnen ist die M. Heidenhainsche Eisenhämatoxylinmethode.

358. Eisenalaun-Hämatoxylin nach M. Heidenhain (92, 94, 96, 17). 1. Vorbehandlung. Mit Wasser aufgeklebte Schnitte (höchstens 5 μ) kommen auf 2—12 Stunden in eine 1,5 bis 5%ige wässerige Eisenalaunlösung (für Zentralkörper: Vorbehandlung in einer 2,5% - Lösung für 6—12 Stunden). 2. Färbung. Nach kurzem Abspülen in dest. Wasser wird 1—36 Stunden in einer gereiften 0,5% - Hämatoxylinlösung gefärbt (Zentralkörper 24—36 Stunden). Herstellung der Farblösung: Man löst 1 g Hämatoxylin in 10 ccm 96% - Alkohol, setzt 90 ccm dest. Wasser zu und läßt mindestens 4 Wochen lang reifen. Zum Gebrauch wird mit dem gleichen Volumen dest. Wassers verdünnt.) 3. Differenzierung. Man bringt die Schnitte in die zur Vorbehandlung benutzte Eisenalaunlösung, in der die pechschwarz gefärbten Schnitte sehr bald viel Farbe abgeben. Von Zeit zu Zeit kontrolliert man den

Grad der Entfärbung (evtl. mit Wasserimmersion), wobei man sie vorher immer in reichlichem Brunnenwasser abspült, um die Differenzierung zu unterbrechen. Je weiter die Entfärbung fortschreitet, desto häufiger muß man kontrollieren; unter Umständen differenziert man gegen Ende mit einer stark verdünnten Eisenalaunlösung (z. B. 0,5%), um den Vorgang zu verlangsamen. Ist der richtige Grad erreicht, dann wäscht man 15—60 Min. in fließendem oder oft gewechseltem Wasser sehr gut aus. Resultate: Chromatinstrukturen, Nukleolen, Zellgranula, Mitochondrien, Zentrosomen, bestimmte Teile der quergestreiften Muskulatur u. a. sind je nach dem Grade der Differenzierung mehr oder weniger stark schwarz gefärbt. Die außerordentlich klar und schön gefärbten Strukturen müssen aber zur Vermeidung von Trugschlüssen sehr sorgfältig beurteilt werden, da sich mit dieser Methode eben die verschiedensten Substanzen färben lassen.

359. Die Eisenalaunlösung muß aus schönen hellvioletten Kristallen hergestellt werden, wobei nicht erwärmt werden darf. (Synonyme: Eisen-Ammon-Alaun, schwefelsaures Eisenoxydammoniak, Ferriammoniumsulfat).

360. Man kann die Schnitte zur Plasmafärbung auch mit Bordeaux R in wässeriger dünner Lösung vorfärben oder in einer ebensolchen von Rubin S (Säurefuchsin), Orange G oder Lichtgrün ca. 5 Min. nachfärben. Auswaschen in 50%-Alkohol, dann 70% usw. Man vermeide ätherische Öle (Bergamottöl usw.).

361. Material, das in osmiumsäurehaltigen Flüssigkeiten fixiert wurde, bringt man, bis die Osmiumschwärzung verschwunden ist, vor der Eisenalaunbehandlung nach Straßburger (05) auf etwa 1 Stunde in die käufliche Wasserstoffsuperoxydlösung, oder man bleicht nach Pal (s. § 548). Ich ziehe das letztere als schonender vor (vgl. auch § 631 ff).

362. Eisenhämatoxylin von Weigert zur Kernfärbung. Lösung a: 1 g Hämatoxylin in 100 ccm 96%-Alkohol. Lösung b: 4 ccm Liquorferri sesquichlorati, 1 ccm offizinelle Salzsäure, 95 ccm dest. Wasser. Unmittelbar vor Gebrauch mischt man gleiche Teile von a und b. Die getrennten Lösungen sind lange haltbar, während die Mischung bald verdirbt. Färbung: Die möglichst dünnen Schnitte kommen aus Wasser für 1—5 Minuten in die Farblösung. Sodann Auswaschen in Brunnenwasser. Ein Differenzieren ist nicht nötig.

363. Zur **Nachfärbung** kann man die Schnitte in eine Mischung von 100 ccm einer konzentrierten wässerigen Pikrinsäurelösung und 5—10 ccm einer 1%igen wässe-

rigen Säurefuchsinlösung bringen, nach etwa 1 Min. kurz abspülen mit Wasser oder besser nur abtrocknen mit glattem Filtrierpapier, 96%-Alkohol usw. (vgl. auch § 415 f.).

364. Der Liqu. ferr. sesquichlor. ist eine 10% wässerige Lösung von Eisenchlorid. Die offizinelle Salzsäure hat ein spezifisches Gewicht = 1,124 und enthält 25% HCl.

365. Chromalaundioxyhämatein von Hansen (05). Herstellung: 10 g Chromalaun, chemisch rein, werden in 250 ccm dest. Wassers gelöst. Die Lösung wird gekocht, bis sie ganz grün ist. Sodann wird darin unter Umrühren 1 g Hämatoxylin gelöst. Nach dem Erkalten fügt man 5 ccm einer 10%-Schwefelsäure zu. Dazu kommt tropfenweise unter stetem Umrühren eine erkaltete Lösung von 0,55 g Kaliumbichromat in 20 ccm dest. Wassers. Sodann erwärmt man die Mischung bis zum Kochen und läßt so lange sieden, bis die Lackbildung vollendet ist (meist schon nach 1—2 Minuten). Vor dem Gebrauch wird filtriert. Färbedauer etwa 5 Minuten; gibt Chromatin- und Plasmafärbung; bei vermehrtem Säurezusatz (6—7 ccm) erzielt man reine Chromatinfärbung. Die Farblösung ist einige Monate haltbar.

366. Mallorysches Hämatoxylin (01): 0,1 g Hämatoxylin wird in 80 ccm dest. Wassers unter Erwärmen gelöst; dazu kommen nach Abkühlen 20 ccm einer 10%igen Lösung von Phosphorwolframsäure (Merck) und 0,2 ccm Wasserstoffsuperoxyd zur Beschleunigung der Oxydation. Nach 12 bis 24stünd. Färben rasch waschen in Wasser, dann 95%-Alkohol, Origanumöl, Xylol, Kanadabalsam. Resultat: Kerne, Neurogliafasern u. a. blau, Nervenfasern rosa, Bindegewebe tief rosa. M. fixiert dazu 4 Tage in Formol 1:4 dann ebensolange in gesätt. wässer. Lösung von Pikrinsäure und hierauf bei 37° in einer 5% wässer. Lösung von Ammoniumbichromat. Dann ohne Wässern durch Alkohol in Celloidin. Nach anderen Fixierungsmethoden färbt sich das Bindegewebe meist blau.

Das ältere Mallorysche Hämatoxylin (91) verdankte seine Färbekraft einer unbekannten Verunreinigung der Phosphormolybdänsäure (s. a. § 1020).

367. v. Szüts (14) gibt zu 100 ccm einer 10%igen wässerigen Hämatoxylinlösung 25 ccm einer 10%-Ammoniummolybdatlösung (sofort gebrauchsfertig). Man färbt 1—2 Min., spült in dest. Wasser ab und bläut ca. 10 Min. in Leitungswasser. Resultat wie 366. Fixierung beliebig, nur nicht in Osmiumsäure (s. a. § 1022).

368. Vanadium-Hämatoxylin nach M. Heidenhain (03 und 08b). Bei der Herstellung desselben verfahre man genau nach folgender Vorschrift: zu 200 ccm einer frischbereiteten 0,5%-Hämatoxylinlösung gießt man 100 ccm einer 0,25%-Lösung von Ammonium vanadinicum. Diese 300 ccm setzt man in einer offenen Kochflasche von 500 ccm Inhalt der Oxydation aus, wobei man nach je 24 Stunden umschüttelt.

(Bei Zimmertemperatur; cave Erhitzen!). Nach einigen Tagen mache man eine Probefärbung, die man dann alle 24 Stunden wiederholt, bis die Lösung das Bindegewebe prachtvoll blau, die Muskulatur goldbraun färbt. Dann füllt man die Farblösung in einen Scheidetrichter von 500 ccm und überschichtet mit Paraffinöl, um ein weiteres Fortschreiten der Oxydation zu verhüten. Auf diese Weise kann die Färbekraft der Lösung einige Monate erhalten werden. Zur Färbung eignen sich nur sublimatfixierte Objekte (besonders in Subtrie § 192). Man bringt dünne Schnitte (5 μ) etwa 5—10 Minuten in die Farbe, wäscht gut in Wasser aus, entwässert und bringt sie schnell durch Xylol in Balsam. Resultat: Starke Protoplasmafärbung in gewöhnlich sepiabraunem Tone (besonders schön: Schleimspeicheldrüsen), starke Färbung des Oxychromatins, schwache des Basichromatins, Gelbfärbung der Nukleolen, oft Blaufärbung des Mucins und des Bindegewebes, Orangefärbung der roten Blutkörperchen, Muskulatur meist goldbraun (Sarkolem und Z-Streifen am Herzen bläulich). Die Färbung hält sich jahrelang unverändert, ist aber nur Geübten zu empfehlen.

369. Die **R. Heidenhainsche Hämatoxylinfärbung** ist eine Stückfärbung. Man bereitet eine ⅓%ige wässerige Lösung von Hämatoxylin. Dieselbe kann frisch verwendet, im Lichte aber nicht lange aufbewahrt werden. Färbung: Die in Alkohol oder gesättigter Pikrinsäurelösung fixierten Objekte kommen für 24 Stunden in die Farbe, dann ebensolange in eine 0,5%ige wässerige Lösung von einfach chromsaurem Kalium (Kalium chromicum flavum). Dieses wird durch die auftretenden Farbwolken rasch gefärbt und muß daher mehrmals gewechselt werden. Dann Auswaschen in Wasser und Weiterbehandlung in steigendem Alkohol usw., Einbetten in Celloidin oder Paraffin. Die Schnitte dürfen höchstens 5 μ dick sein. Neben der Kernfärbung erhält man ausgezeichnete Protoplasmafärbung.

370. Wenn man eine 0,5%ige Hämatoxylinlösung und eine 0,5 bis 1%ige Chromkaliumlösung in großen Mengen nur wenige Stunden einwirken läßt, und die letztere öfters wechselt, so erhält man nach Apathy eine aschgraue Färbung, die auch an dickeren Schnitten noch deutliche Bilder gewährt.

371. Für Stückfärbung empfiehlt **O. Schultze** (10) eine **Osmium-Hämatoxylinmethode.** Sehr kleine Organstückchen werden nach § 149 in 1—2%iger Osmiumsäure fixiert; nach 24—48 Stunden wird die Osmiumsäure abgegossen und durch destilliertes Wasser ersetzt. Nach einigen Minuten (spätestens in 24 Stunden) kommen die Objekte in eine 0,5%ige alkoholische (70%) gereifte Hämatoxylinlösung, die man vorher zur Reifung 2—3 Tage lang in offener Flasche bei 35—40° C stehen läßt. Die Farblösung schwärzt sich zunächst und wird 1—2mal

gewechselt, bis sie ihre braune Farbe behält. Nach 2tägigem Stehen bei Zimmertemperatur wird in 70%igen Alkohol übertragen und dieser so oft erneuert, bis er sich nur noch wenig bräunt. Nach 24 Stunden Übertragen in 96%igen Alkohol, absoluten Alkohol, Zedernöl, Paraffin (1 Stunde oder kürzer). Die Schnitte sollen nicht über 2 μ dick sein. Resultat: Darstellung der Zellgrenzen, der Interzellularsubstanzen und Kittleisten, Epithelfasern, Granula, Chondriosomen, Struktur der quergestreiften Muskulatur usw.

372. Bei einer älteren Methode (04) fixiert O. Schultze in Chromsäure oder Chromsalze enthaltenden Flüssigkeiten wie in einer Mischung von 3%igem Kaliumbichromat und 2% Osmiumsäurelösung (3:1) oder in Flemming u. dgl. Die fixierten Stücke kommen ohne Wässern gleich in 50- und 70%igen Alkohol und sodann in die Hämatoxylinlösung wie in § 371. Bergamottöl löst die Chromsalzhämateinverbindung.

3. Anilinfarben.

a) Allgemeines.

373. Auch bei der Färbung mit **Anilin-** oder **Teerfarben** unterscheidet man zwischen progressiver und regressiver Färbungsmethode (vgl. auch § 320). Bei Anwendung der ersteren arbeitet man in der Regel mit stark verdünnten Lösungen, während man für regressive Färbung meist konzentriertere Lösungen benutzt.

374. Gute, zum Teil progressive, zum Teil regressive Kernfärbungen erhält man mit Safranin, Thionin, Toluidinblau, Gentianaviolett, Methylgrün. Zur Färbung anderer Zellbestandteile werden hauptsächlich Orange G, Eosin, Fuchsin S, Bleu de Lyon, Lichtgrün usw. verwendet, wobei man sie aber seltener allein, als vielmehr im Anschluß an eine Kernfärbung anwendet. Dabei ist man meist bestrebt, möglichst differente Farben zu kombinieren, wie rot und blau oder rot und grün u. dgl.

375. Die Zahl der in der Mikrotechnik verwendbaren Anilinfarbstoffe ist an und für sich sehr groß, für gewöhnlich kommt man aber mit einer ziemlich geringen Zahl aus, da die Mehrzahl der Farben, abgesehen von geringen Farbnuancen, sich in ihren für mikrotechnische Zwecke ausnutzbaren Eigenschaften meist ziemlich ähnlich ist. Im nachfolgenden sollen daher auch nur die wichtigsten angeführt werden.

376. Zur Verstärkung der Färbung wird der Farbstoff oft in Anilinwasser gelöst. Unna (10a) empfiehlt

aus dem gleichen Grunde Zusatz von Thymen zur wässerigen Lösung.

377. Ein großer Nachteil der oft ungemein konstrastreichen Anilinfärbungen ist ihre häufig nur sehr geringe **Haltbarkeit.** Es ist sehr ärgerlich, wenn man die Färbungen schon nach einem halben Jahre oder noch eher, oft vor Beendigung der Untersuchungen, ausgeblaßt findet. In jenen Fällen, in denen es auf lange Haltbarkeit der Präparate ankommt, wähle man daher eine Methode, bei der wenigstens die Kernfärbung dauerhaft ist. Meist sind dies Kombinationen von einer Karminkernfärbung od. Hämatein kernfärbung (auch Eisenhämatoxylin) und einer Anilinplasmafärbung.

378. Sehr oft wird die Anilinfärbung schon beim Entwässern der Präparate mit Alkohol stark angegriffen. Auch Karbolxylol ist für viele Anilinfärbungen schädlich. Man hilft sich oft dadurch, daß man die (aufgeklebten) Präparate mit Fließpapier abtrocknet, um die größte Menge des Wassers zu entfernen, sie dann nur kurz in absoluten Alkohol eintaucht und mit 2—3mal gewechseltem Xylol weiterbehandelt. Die Entfernung auch der geringsten Alkoholspuren ist sehr wichtig, da diese das Ausblassen wesentlich beschleunigen. In anderen Fällen vermeidet man den Alkohol ganz und entwässert in Azeton. Man bringt die Präparate dazu zuerst kurz in reines Azeton, dann in Azeton-Xylol 3:1, 1:1, 1:3 und endlich in reines Xylol. Die Mischungen mit Xylol wendet man an, um den Aufenthalt in reinem Azeton nicht zu sehr auszudehnen, da auch dieses häufig die Farbe auszieht. Sehr wertvoll ist für viele Anilinfärbungen auch die Entwässerung in Bergamottöl, das man schließlich ebenfalls durch Xylol ersetzt.

379. Mit großem Vorteil kann man Terpineol zum Entwässern der Präparate verwenden, das sich schon mit 85 — 90% - Alkohol mischt und auch empfindliche Färbungen nicht angreift. P. Mayer empfiehlt es auch als Einschlußmedium für derartige Präparate (vgl. § 491).

380. Von Einfluß auf die Haltbarkeit wie auch überhaupt auf den Ausfall der Färbung ist auch die **Fixierung** des Objektes, worauf sehr oft nicht geachtet wird. Sind z. B. von dieser her noch Säurespuren im Gewebe zurückgeblieben, so werden diese auf säureempfindliche Farben schädlich wirken. Ferner sei nochmals auf die Schädlichkeit von Jodspuren hingewiesen

(vgl. § 176). Alle mit Jod in Berührung gekommenen Präparate müssen unbedingt mit Fixiernatron entjodet worden sein. Eine Reihe von Anilinfärbungen ist ferner nur nach bestimmten Fixierungen möglich.

381. Als **Einschlußmedium** nimmt man für gewöhnlich ganz reinen, neutralen Kanadabalsam, den man in Xylol löst. In saurem Kanadabalsam geht die Färbung meist sehr bald zugrunde. Heidenhain empfiehlt ferner zur Verhütung des Ausbleichens, die Balsamschicht möglichst dünn zu machen; er beschwert deshalb das Deckglas nach dem Eindecken mit einem Bleigeschoß (evtl. im Thermostaten bei 45° C). Wichtig ist ferner, daß das Präparat von einem breiten Rand umgeben ist. Man nehme daher nicht zu kleine Deckgläser.

382. Fixierung der Färbung. Ein anderer Weg, um die Färbungen dauerhaft zu machen, ist der, die Farbe im Schnitt zu fixieren, d. h. mehr oder weniger unlöslich zu machen. Methylenblau gefärbte Schnitte bringt man z. B. auf mehrere Stunden in eine 5% wässerige Lösung von molybdänsaurem Ammonium, wäscht dann einige Minuten aus und bringt sie durch Alkohol (ca. 1 Min.) in Xylol. Derart fixierte, zum Teil mit Chromotrop nachgefärbte Methylenblaupräparate haben sich mir nun schon 10 Jahre unverändert gehalten. Statt Ammoniummolybdat kann man auch eine gesättigte Lösung von Ammoniumpikrat verwenden. (Vorsicht, trocken leicht explosibel.) (Vgl. auch § 1044.)

383. Schuberg bringt die mit basischen Anilinfarben, wie Dahlia, Fuchsin, Methylgrün u. a. gefärbten Schnitte nach Auswaschen in dest. Wasser auf 3—5 Min. in eine 10% wässerige Tanninlösung, wäscht wieder in Wasser aus, überträgt dann 3—5 Min. in eine 2—3% wässerige Lösung von Brechweinstein und wäscht abermals in Wasser aus.

384. Nach Unna (10a) kann die Haltbarkeit der Färbungen oft durch Zusatz von Thymen zum Xylol und zum Kanadabalsam gebessert werden.

385. Vgl. auch die Fixierung von Anilinfärbungen durch Sublimat (§ 466, Formol § 439, ferner § 400).

386. Über die Einteilung der Anilinfarbstoffe. Ehrlich klassifiziert die Anilinfarbstoffe, von anderen Gesichtspunkten wie der Chemiker ausgehend, in saure, basische und neutrale. (Nach Giemsa (11) besser als azidochrom, basochrom und amphochrom bezeichnet.) **Saure**

(azidochrome) Farbstoffe nennt Ehrlich jene Verbindungen, bei denen, wie im pikrinsauren Ammonium, eine Säure das färbende Prinzip darstellt. Zu ihnen gehören z. B. Aurantia, Benzoazurin, Bordeaux, Eosin, Erythrosin, Indulin, Kongoroth, Lichtgrün S. F., Nigrosin, Orange, Säurefuchsin u. a. Sie färben hauptsächlich das Protoplasma der Zellen und viele ihrer Produkte. Sie sind schwer löslich in Alkohol und leichter löslich in Wasser.

Die **basischen (basochromen)** Farbstoffe sind, wie das essigsaure Rosanilin, aus einer Farbbase und einer indifferenten Säure entstanden gedacht. Dazu gehören: Bismarckbraun, Fuchsin, Gentianaviolett, Methylenblau, Methylgrün, Methylviolett, Thionin, Toluidinblau u. a. Sie sind chromatinfärbend, färben aber auch gewisse Granula, Schleime usw. Sie sind leicht in Alkohol und schwer in Wasser löslich.

Die **neutralen (amphochromen)** Farbstoffe schließlich denke man sich als Salze, welche, wie das pikrinsaure Rosanilin, durch Zusammentritt einer Farbbase und einer Farbsäure entstehen.

387. Die meiste färbbare Eiweißsubstanz ist nach Pappenheim **amphophil,** d. h. sie läßt sich bei Anwendung homogener basischer oder saurer Farbgemische sowohl mit der einen wie mit der anderen Komponente färben. Davon gibt es eigentlich nur zwei Ausnahmen, nämlich die reifen eosinophilen Leukozytengranula, die sich nur mit sauren (azidochromen), und die basophilen Mastzellengranula, die sich nur mit basischen (basochromen) Farbstoffen färben. Die Bezeichnung der anderen, demnach eigentlich amphophilen Substrate als azido- bzw. basophil bedeutet also nur, daß im amphoteren Molekül entweder die sauren Karboxyl- oder die basischen Amidogruppen an Zahl oder chemischer Affinität überwiegen, so daß bei Anwendung eines heterogenen, neutralen Gemisches saurer und basischer Farbstoffe die einen Substrate nur den basischen, die andern nur den sauren Farbstoff aufnehmen, die andere Farbgemischkomponente aber zurückweisen. Im Falle der Neutrophilie halten sie sich wohl die Wagschale. Basophilie und Oxyphilie versteht sich also nur in Rücksicht auf die bei Anwendung neutraler Gemische zutage tretende prävalierende Chromophilie.

388. Eine Reihe basischer Farbstoffe, wie Methylviolett, Thionin, Toluidinblau, Neutralrot, Safranin u. a. färbt bestimmte Substanzen, wie Schleim, Amyloid, Knor-

pelgrundsubstanz, nicht in der Farbe der zur Färbung benutzten Lösung (also des neutralen Farbsalzes, also violett oder blau bei den drei ersten, rot bei den zwei letzten) sondern **metachromatisch** in der Farbe der Farbbase, nämlich rot bis purpur bei den drei ersten, gelb bei den zwei letzten. Nach Hansen (08) beruht die Metachromasie darauf, daß die genannten Gewebebestandteile die in den wässerigen Farblösungen vorhandenen, hydrolytisch gebildeten freien Moleküle der Farbbase im besonderen Grade aufspeichern und sich daher in deren Ton besonders stark färben.

389. Bei Färbungen mit Anilinfarbstoffen hat man ganz besonders auf die Herkunft der Farben zu achten, da gleichnamige Farben verschiedener Fabriken sehr oft ganz differente Eigenschaften haben. Am besten bezieht man die Farbstoffe von Grübler.

390. Eine Reihe von Farbmischungen ist in Form von Tabletten erhältlich, die vor Gebrauch nach Vorschrift gelöst werden. Friedberger (16) gebraucht Farbstifte (hergestellt von Altmann, Berlin NW 6), die für praktisches Arbeiten ganz brauchbar sind. Für exakte Untersuchungen sind sie wohl weniger geeignet.

391. Die im nachfolgenden angegebenen Anilinfärbungen reichen für die gewöhnlichen Zwecke der Färbung aus. Färbemethoden, welche besonderen Aufgaben dienen, werden im speziellen Teil erwähnt. (S. auch im Sachregister: Färbemethoden.)

b) Kernfärbung mit basischen Anilinfarben.

392. Safranin ist ein wertvolles Kernfärbemittel, vor allem für Präparate, die in chrom- oder osmiumhaltigen Flüssigkeiten fixiert werden. Sehr wichtig für das Gelingen der Färbung ist aber ein gutes Safranin. Das alte von Flemming benutzte ist nicht mehr erhältlich (Winiwarter 08). An seiner Stelle ist das Safranin 20 (Grübler), I (de Haën) oder 0 (Schuchardt) zu empfehlen.

393. Man löst 1 g in 100 ccm absoluten Alkohols und setzt einige Tropfen Anilinwassers (s. § 397) zu. Zum Gebrauch verdünnt man mit der gleichen Menge destillierten Wassers (Winiwarter und Sainmont 08).

Die Schnitte werden hierin 24 Stunden gefärbt, mit dest. Wasser kurz abgewaschen und in abs. Alk. differenziert. Hierauf Xylol und Balsam. Resultat: Chromatin intensiv rot, besonders bei Objekten, die mit osmiumsäurehaltigen Lösungen fixiert wurden (Basichromatin. Heidenhain).

Mit schwach angesäuertem abs. Alk. (1‰ Salzsäure) geht die Differenzierung rascher vor sich. Die Säure muß durch reinen Alkohol wieder entfernt werden. Podwissotzki (87) nimmt statt Salzsäure pikrinsäurehaltigen abs. Alkohol.

Von zahlreichen anderen Safraninlösungen führe ich noch folgende an:

394. Alkoholische Lösung von Flemming: Man löse 1 g Safranin in 100 ccm abs. Alk. und verdünne nach Lösung mit 50 ccm dest. Wasser.

395. Anilinwassersafranin nach Babes. Man löst 2—3 g Safranin in Anilinwasser bei Erwärmung auf 60° C und filtriert heiß durch ein wasserbenetztes Filter (Lösung nur einige Monate haltbar).

396. Schuberg empfiehlt eine Mischung der beiden letztgenannten Lösungen zu gleichen Teilen.

397. Herstellung von **Anilinwasser.** Man schüttelt 5—10 ccm Anilin. puriss. mit 100 ccm Aqua dest. fest durch und filtriert durch ein mit Wasser angefeuchtetes Filter.

398. Liegen Präparate sehr lange in Alkohol, so läßt sich ihre Färbbarkeit für Safranin dadurch wieder herstellen, daß man sie 5—10 Min. mit verdünnter Flemmingscher Lösung beizt: 10—15 Tr. auf 5 ccm Wasser (Ssobolew 99).

399. Thionin wie **Toluidinblau** (P. Mayer 98) geben gute Kernfärbungen. Man färbt 12—24 Stunden in 1% wässeriger Lösung und differenziert in 96% Alkohol. Vielfach genügt es auch schon, 10—20 Min. zu färben. Fixierung in Sublimat, Sublimatgemischen, Bouin, Flemmingscher Lösung, auch absolutem Alkohol, (Altmann, Metzner u. a.). Schleim, Knorpelgrundsubstanz und Mastzellengranula färben sich metachromatisch. Die Thioninfärbungen sind gegen Alkohol äußerst empfindlich, etwas weniger die mit Toluidinblau. Auch im Kanadabalsam blassen sie leicht ab.

400. Um die Färbung beständiger zu machen, empfiehlt Metzner (07 u. 15), die aufgeklebten und paraffinbefreiten Schnitte zunächst etwa 45 Min. in 3—5%iger wässeriger Eisenalaunlösung zu beizen. Nach Abspülen mit Wasser färbt man 10—20 Min. in einer dünnen Lösung von Toluidinblau und differenziert in 50%-Alkohol, bis keine Farbwolken mehr abgehen. Wenn sich die Schnitte ablösen sollten, so beizt man etwa 40 Stunden in einer alkoholischen Eisenalaunlösung und färbt mit alkoholischer Farblösung.

401. Die Färbungen können auch mit 5% molybdänsaurem Ammoniak (5—10 Min.) fixiert werden.

402. Sehr wertvoll ist **Methylgrün,** das nach Pappenheim (08) von allen substantiv färbbaren oxyphilen und

basophilen Substraten nichts als das Chromatin (Metazoen) färbt. Herstellung: 1 g Methylgrün wird in 100 ccm dest. Wassers gelöst und 25 ccm abs. Alk. zugegeben. Färbung: 10 Min. Bei längerer Dauer wird mit 20%-Alkohol auf das Doppelte oder mehr verdünnt. Nach der Färbung Abspülen in Wasser, Differenzieren in 70% Alkohol (ca. 1 bis 2 Min.), abs. Alkohol (1 Min.), Xylol, Kanadabalsam. Leider ist die Haltbarkeit der Färbung oft gering. Wichtige Farbgemische mit Methylgrün siehe § 433 f.

Methylgrün ist oft mit Methylviolett verunreinigt. Zur Entfernung der letzteren schüttelt mau mit Chloroform aus.

403. Über Verwendung bei frischen Geweben siehe § 513.

404. Bismarckbraun nach Weigert (78). Kernfärbung. Auch Knorpelgrundsubstanz wird intensiv gefärbt. Herstellung der Farblösung und Färben wie § 402 (Methylgrün). Farbton unschön.

405. Fuchsin (Magenta, Rubin basischer Farbstoff, nicht zu verwechseln mit Säurefuchsin und Rubin S). Anwendung wie Safranin. Nach Sereni besitzt es metachromatische Eigenschaften. (Schleim wird z. B. violett gefärbt.)

406. Gentianaviolett dient zur Kernfärbung z. B. in 1% wässeriger Lösung. Differenziert wird in 96%-Alkohol. Ebenso **Methylenblau** oder **Kresylviolett R extra.** Haltbarer sind konzentrierte wässerige Lösungen der betreffenden Farbstoffe, zu denen man nach 1—2 Tagen das gleiche Volumen 96%-Alkohols setzt. Zur Färbung gibt man einige Kubikzentimeter in destilliertes Wasser. Bei sehr starker Überfärbung differenziert man in schwach essigsaurem Wasser. Dann abs. Alk.

407. Zur Herstellung der **Gramschen Gentianaviolettlösung** (etwa 10 Tage haltbar) setzt man zu 100 ccm Anilinwasser 11 ccm einer konzentrierten alkoholischen Lösung von Gentianaviolett. Färbedauer 3 bis 5 Min., Abspülen mit Wasser, Aufgießen von Jodjodkaliumlösung (1:2:300) 2 Min., Abgießen der Jodlösung und Differenzieren in absolutem Alkohol Xylol, Kanadabalsam.

c) Mehrfachfärbung.

408. Läßt man bestimmte Farben in Mischung **(simultan)** oder nacheinander **(succedan)** auf denselben Schnitt einwirken, so färben sich nicht etwa alle Gewebeteile des Schnittes in der Farbe der Mischung, sondern bestimmte Gewebeteile nehmen nur die eine, andere dagegen die zweite Farbe an. Je nach der Zahl der kombinierten Farben

spricht man dann von Doppel-, Dreifach- oder kurz von Mehrfachfärbungen.

409. Wenn ein Gemisch von zwei Farben einen Schnitt in gleichmäßiger Mischfarbe tingiert, so ist das keine Doppelfärbung in unserem Sinne. Nur ganz bestimmte Farbenzusammenstellungen geben Mehrfachfärbungen, die für die histologische Untersuchung von Wert sind.

Eine richtige Mehrfachfärbung ist es z. B., wenn durch einen blauen Farbstoff, wie Hämalaun oder Toluidinblau, die Kerne in blauer Farbe und durch eine zweite sog. plasmafärbende, saure Farbe, wie Eosin, die übrigen Bestandteile des Präparates in roter Farbe voneinander geschieden werden. Keinen Wert hätte dagegen die Kombination zweier blaufärbender Farbstoffe, wie z. B. Toluidinblau und Thionin.

Durch Zusammenstellung mehrerer kernfärbender Farben können ferner verschiedene Teile des Kernes oder verschiedene Kernarten (z. B. sog. saure Kerne) auseinandergehalten werden. Anderseits kann man auch mehrere nicht kernfärbende Farben mit einer kernfärbenden kombinieren und dadurch drei- und mehrfache Farbunterschiede erzielen.

Eine andere Reihe von Farben tingiert nur ganz bestimmte Gewebe, z. B. elastische Fasern. Auch sie werden bisweilen wieder mit anderen Farben, z. B. zur Kernfärbung, kombiniert.

Im nachfolgenden ist eine Zusammenstellung der für allgemeine Zwecke zu empfehlenden Mehrfachfärbungen gegeben.

410. Eine der gebräuchlichsten Doppelfärbungen ist die **Hämalaun-Eosinfärbung**, die auch für den Anfänger von allen Doppelfärbungen zuerst einzuüben ist. Dazu werden zunächst die Kerne eines Präparates mit Hämalaun nach § 349 gefärbt und mit Wasser gut ausgewaschen, so daß die Kerne dunkelblau auf grauem, beinahe ungefärbtem Grunde hervortreten. Zur Plasmafärbung benutzt man eine 1%-Stammlösung von Eosin w. g. (= wasserlöslich, gelblich) in dest. Wasser, die man zur Färbung noch mit der 3—10fachen Menge dest. Wassers verdünnt. Darin färbt man die Schnitte 3—5 Minuten. Die Dauer der Färbung richtet sich nach der Konzentration der Lösung. Bei stärkerer genügt schon 1 Min., bei schwächerer färbt man entsprechend länger. Dann wird der Überschuß des Farbstoffes in Wasser gut ausgewaschen, bis sich das Wasser kaum mehr rot färbt. Hierauf kommen die Schnitte für etwa 2 Minuten in 80%-Alkohol, für 3—5 Min. in 96%-Alkohol und schließlich zur völligen Entwässerung auf 2 bis 3 Min. in absoluten Alkohol. Von hier werden sie in

Xylol gebracht und nach 2—3 Minuten in Kanadabalsam eingedeckt. Resultat: Kerne und Knorpel blau, alles übrige in verschiedenen Tonabstufungen rot.

411. Statt der wässerigen Lösung kann man auch eine 1%-Lösung in 90%-Alkohol nehmen. Die Färbedauer ist darin gewöhnlich etwas länger.

412. Da ein Teil der Eosinfärbung beim Auswaschen und Entwässern wieder ausgezogen wird (in schwachen Alkoholen mehr als in starken), so muß man bei ihr, ganz im Gegensatz zur Hämalaunfärbung, zunächst überfärben, also das Gewebe stärker färben, als es später sein soll. Man hüte sich jedoch vor zu starker Überfärbung, da ein derartiges Präparat schmierig und undeutlich wird. Besonders der Anfänger neigt zu einer Überfärbung mit Eosin. in der irrigen Annahme, dadurch eine schärfere Trennung der Strukturen erreichen zu können. Im übrigen ist eine Korrektion der Überfärbung durch entsprechend langes Ausziehen der Farbe mit 70%-Alkohol (evtl. mehrere Stunden) leicht möglich. Am längsten halten die eosinophilen Granula, Dotterplättchen, Kernkörperchen und Blutkörperchen den Farbstoff fest. Bringt man Schnitte aus alkalischen Flüssigkeiten in Eosin, so haftet die Farbe nur schlecht.

413. Der einfachen Eosinlösung wird von manchen eine 0,1—1% wässerige Lösung von Erythrosin oder von Jodeosin vorgezogen. Für distinkte Färbung von Faserstrukturen färbe man in ganz verdünnten Lösungen ca. 24 Stunden.

Statt Hämalaun können natürlich auch alle anderen in § 344—362 angegebenen kernfärbenden Hämatoxylingemische mit Eosin usw. kombiniert werden.

414. Zur Nachfärbung nach Hämalaun, insbesondere aber auch nach Eisenhämatoxylin empfehlen sich auch Säurefuchsin (Fuchsin S), Rubin S, Orange G oder Lichtgrün. Man verwendet meist 0,5 — 1% wässerige Lösungen, die nach Zusatz von etwas Formol gut haltbar sind. Überfärbungen lassen sich durch Auswaschen mit Wasser leicht korrigieren. Sämtliche in § 410 — 414 angeführten Doppelfärbungen sind sehr haltbar.

415. Sehr gebräuchlich ist, besonders in der pathologischen Anatomie, die Färbung nach **van Gieson.** (Fixierung nach Müller, Zenker, Orth, in Alkohol, Sublimat, Formol od. dgl.) Kernfärbung mit einem der Hämatoxylingemische, Auswaschen, dann 3—5 Min. in ein Gemisch von konzentrierter wässeriger Pikrinsäurelösung mit konzentrierter wässeriger Säurefuchsinlösung (von letzterer so viel, daß eine dunkelgranatrote

Farbe entsteht), kurz abspülen in Wasser, 96%-Alkohol, absoluter Alkohol, Xylol, Kanadabalsam; oder man färbt ½—1 Min., trocknet mit mehrfach gefaltetem glatten Filtrierpapier ab, dann gleich 96%-Alkohol usw. Die Methode ist einfach und gibt dabei schöne Dreifachfärbung: Kerne schwarzbraun; Bindegewebe leuchtend rot; Muskulatur u. a. gelb; Amyloid, Kolloid, Hyalin und Schleim in besonderen Tonabstufungen. Nachteilig ist, daß besonders die Fuchsinfärbung schon nach einigen Monaten abblaßt.

416. Bei der vorausgehenden Kernfärbung mit Hämalaun od. dgl. überfärbe man die Schnitte etwas, da die Pikrinsäure zum Teil entfärbend wirkt.

417. Die Mengenangaben in der obigen Originalvorschrift von van Gieson sind sehr unbestimmt, weshalb ich besonders folgende Modifikation nach Benda empfehle: Stammlösung: gesättigte wässerige Lösung von pikrinsaurem Ammoniak 95 ccm + 1% wässerige Säurefuchsinlösung (oder Rubin S) 5 ccm; unbegrenzt haltbar. Zum Gebrauch gibt man auf 10 ccm der Stammlösung 1—2 Tropfen einer gesättigten, wässerigen Pikrinsäurelösung. Gut mischen. Will man die Schnitte gelber, dann 3—4 Tropfen. Färbungsdauer 10—15 Min., dann direkt in 80%-Alkohol usw. Kein Wasser! Die vorausgegangene Kernfärbung mit Hämatoxylin wird durch diese Lösung nicht angegriffen.

418. Sehr gut ist auch die Weigertsche Anwendung der van Gieson-Färbung vgl. § 363. Dabei wird die Neuroglia, im Gegensatz zum van Giesonschen-Verfahren, nicht gefärbt.

419. Nachfärbung mit **Rubin-S-Ammoniumpikrat** nach Apathy. Vorfärbung in Hämatoxylin I A (§ 350), Abspülen in dest. Wasser oder in Leitungswasser, wenn die Tinktion dunkler werden soll. Sodann färben in: Konzentr. Ammoniumpikratlösung in 1%iger Lösung von Natr. salicylic. 100 ccm, dazu 2 ccm einer 10%-Rubin S-Lösung (= Säurefuchsin). Nach wenigen Minuten spült man in dest. Wasser mit Zusatz von etwas Ammoniumpikrat ab, entwässert flüchtig mit 90%-Alkohol und bringt durch Chloroformalkohol und reines Chloroform möglichst rasch in Chloroform-Kanadabalsam. Ich selbst ziehe vor, die Schnitte aus dem 90%-Alkohol in Terpineol, Xylol und Xylol-Kanadabalsam zu bringen.

420. Die **Delamaresche** Mischung färbt gleichzeitig Kerne violett, Protoplasma und Muskel gelb, kollagenes Bindegewebe rot, elastische Fasern schwarz. Herstellung: 1 g **Orzein** wird in 50 ccm abs. Alk. + 1 ccm Salzsäure

gelöst und mit dem gleichen Volumen folgender Lösung gemischt: saures **Hämatoxylin** nach Ehrlich (s. § 353) 2 ccm, gesättigte wässerige Lösung von **Säurefuchsin** (Grübler) 1 ccm, gesättigte wässerige Lösung von **Pikrinsäure** 200 ccm. (Die Mischung hält sich nicht über eine Woche.) Mit Wasser aufgeklebte Schnitte von Alkohol- oder Formolpräparaten werden in der Delamareschen Mischung 30 Min. bei 45° C gefärbt, mit etwas saurem Wasser abgespült, (4—5 Tropfen HCl auf 100 ccm H_2O), mit gewöhnlichem Wasser gewaschen und durch Alkohol und Xylol in Kanadabalsam gebracht.

421. Nach **Karminkernfärbung** wird sehr häufig **Pikrinsäure** als Kontrastfarbe benutzt, häufig als gesättigte wässerige Lösung (in manchen Fällen auch in alkoholischer Lösung), die für die Färbung im Verhältnis 1:3 mit Wasser verdünnt wird. Bei Schnitten genügt eine Nachfärbung von 2—5 Minuten. Dann auswaschen mit Wasser, Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. Beim Auswaschen beachte man, daß die Pikrinsäure in fließendem Wasser rasch und fast vollständig weggeht; man kann jedoch schon mit bloßem Auge den Moment erkennen, in welchem der Schnitt eben noch einen gelben Ton besitzt. Auch durch Alkohol und Xylol wird sie noch ausgezogen

Die Nachfärbung mit Pikrinsäure kann auch im Stück geschehen; Dauer je nach der Größe des Objektes 2—24 Stunden. Dabei wirkt die Pikrinsäure auf Präparate, welche mit Boraxkarmin durchgefärbt sind, differenzierend, so daß also die Stücke aus Boraxkarmin statt in salzsauren Alkohol direkt in Pikrinsäure übertragen werden können. Man nimmt dann eine gesättigte Lösung in 70%-Alkohol.

422. Pikrokarmin, nach P. Mayer (97) ein inkonstantes Gemisch von Ammoniumpikrat, Ammoniakkarmin und freiem Ammoniak, wurde von Ranvier in die Technik eingeführt. Das Gemisch färbt sehr ungleichmäßig, ebenso die zahlreichen Modifikationen, und ist besser durch eine Färbung nach § **421** zu ersetzen.

423. Indigokarmin kann nach P. Mayer (96) in einfacher Weise angewandt werden, indem man eine Lösung von 0,1 g Indigokarmin in 50 ccm Wasser (oder 5%-Alaunlösung) mit dem 4—20fachen Volumen von Karmalaun oder Hämalaun vermischt.

424. Von Apathy (96) empfiehlt Indigokarmin zur Nachfärbung nach Safranin. (Fixierung in Hermannscher Flüssigkeit.)

425. R. y Cajal (97) färbt zuerst in gesättigter wässeriger **Magentalösung,** wäscht in Wasser, bis die Farbe nicht mehr ab-

geht, und färbt dann 5 Min. in gesättigter wässeriger **Pikrinsäurelösung**, in der auf 100 ccm 0,4 g **Indigokarmin** gelöst wurde. Waschen in Wasser, zu dem eine Spur Essigsäure zugesetzt wurde; rasche Entwässerung mit Alkohol; Xylol, Kanadabalsam. Resultat: Azidophile Substanz feuerrot, basophile grau bis himmelblau.

426. Poll (08) färbt 5 Min. in einer Mischung von ges. wässeriger **Pikrinsäure** 100 ccm und **Indigokarmin** 0,4 g, dann ohne oder nach kurzem Abspülen in Wasser in konz. wässer. **Magentarot** (5 Min.) und differenziert in abs. Alk. Färbung für Mitosen, Knorpel, Schleim, Ossifikation usw. sehr elektiv.

427. Pikroindigokarmin. R. Krause (11) färbt nach Karmalaun, Parakarmin oder Safranin 5—10 Min. mit 1 g Indigokarmin in 300 ccm konz. wässer. Pikrinsäure; auswaschen in 70%-Alkohol usw. Kerne rot, Bindegewebe leuchtend blau, Zellprotoplasma und Muskulatur grasgrün.

428. Oppel (12) bringt Zelloidinschnitte von Formalinpräparaten nach Stückfärbung mit Boraxkarmin auf 1½ Min. in eine Lösung von 100 ccm konz. wässer. Pikrinsäure und 3 g Indigokarmin (frisch hergestellt, oft geschüttelt), dann für 1 Min. in Pikrinsäure-Säurefuchsin (nach Weigert § 418), 5 Min. in mehrfach gewechseltes dest. Wasser, 2 Min. in 96%-Alk., Karbolxylol, Kanadabalsam, Resultat: Kerne karminrot, Knochen blau, Muskel braun, Blut grün, Bindegewebe fuchsinrot resp. blauschwarz in verschiedenen Abstufungen usw. Die Färbung soll haltbar sein.

429. Karmin-Bleu de Lyon (Baumgarten). Bleu de Lyon ist löslich in Alkohol, unlöslich in Wasser. Röse löst die Farbe in absolutem Alkohol und verdünnt dann einige Tropfen der Lösung so stark mit absolutem Alkohol, daß die Flüssigkeit kaum mehr blau erscheint. Darin werden die im Stück oder Schnitt mit Karmin vorgefärbten Präparate 24 Stunden nachgefärbt.

430. Bleu de Lyon färbt nach Tonkoff viel rascher und intensiver, wenn man zur Farbe Jodtinktur zusetzt (1 Tr. auf 30 ccm Farblösung) oder die Schnitte vor der Färbung mit sehr verdünnter Jodtinkturlösung behandelt. Wie ich beobachten konnte, bleichen die Präparate bei Jodzusatz rascher aus.

431. Skrobansky (04) färbt mit Boraxkarmin vor und dann mit Bleu de Lyon-Pikrinsäure nach. Zu 100 ccm Wasser setzt man 4 ccm einer konz. alkohol. (95%) Bleu de Lyonlösung und 10 ccm einer gesättigten wässerigen Pikrinsäurelösung. Man färbt 2—3 Min., dann durch 80%, abs. Alkohol und Xylol in Kanadabalsam.

432. Schuberg (03) bringt mit **Borax** oder **Parakarmin** vorgefärbte Stücke in eine 0,5%-**Osmiumsäure.** Nach 12 bis 24 Stunden kommen die Präparate ebensolange in Holzessig, der mit dem gleichen oder doppelten Volumen Wasser verdünnt ist. Dann Wässern usw., Einbetten. Nach der Karminfärbung darf nicht zu stark differenziert werden, da auch der Holzessig die Farbe etwas auszieht.

Über die nachfolgenden, in § 433, 434 und 435 angeführten Farbgemische hat Pappenheim eine wichtige Studie geschrieben (08).

433. Die **Methylgrün-Pyronin**-Doppelfärbung gestattet eine morphologische Trennung zwischen Chromatin und Plastin der Zelle (Chromatin grün, karyogenes wie plasmatisches Basi- und Oxyplastin dagegen rot) (s. § 434).

Die **Methylenblau-Eosin**-Doppelfärbung differenziert ganz allgemein basophile (blau) von oxyphiler Substanz (rot), unterscheidet aber innerhalb der basophilen nicht das Basiplastin vom Oxyplastin (s. § 714).

Die **Methylgrün-Pyronin-Orange**-Dreifachfärbung trennt zwischen Chromatin (grün), Basiplastin (rot) und Oxyplastin (orange) (s. § 435).

434. Methylgrün-Pyronin nach Pappenheim-Unna. Schnitte von Alkohol-Sublimat, oder nach Orth oder Helly fixiertem Material werden gefärbt in: Methylgrün 00 Cryst. gelblich (Grübler) 0,15 g; Pyronin 0,25 g; 96%-Alkohol 2,5 ccm; Glyzerin 20,0 ccm; krist. Karbolsäure 0,5 g; dest. Wasser 100 ccm. Man färbt 10—25 Minuten, spült einige Sekunden in Wasser ab und differenziert in 70%-Alkohol. Sodann abs. Alk., Xylol, Balsam; Resultat: Chromatin: grün. Plastin: rot.

435. Methylgrün - Pyronin - Orange - Neutralgemisch nach Grosso (02). Man mischt von gesättigten wässerigen Farblösungen von Methylgrün 3,2 ccm, Pyronin 6,0 ccm, und Orange G 1 ccm mit 75 ccm destillierten Wassers in der genannten Reihenfolge. Nach 24 Stunden wird die Lösung, die sehr haltbar ist, zum Gebrauch filtriert. Die von Alkohol oder formolfixiertem Material stammenden Schnitte kommen auf 5—10 Min. in die Farbe, sodann abspülen in destilliertem Wasser, abtrocknen mit Filtrierpapier, differenzieren in absolutem Alkohol, bis fast keine Farbe mehr ausgezogen wird, Xylol, Kanadabalsam. Resultat vgl. § 433.

436. Methylgrün-Fuchsin-S-Orange ist ein neutrales Gemisch, das gewöhnlich unter dem Namen **Triazid** bekannt ist. Die ursprüngliche Ehrlich-Biondische Lösung ist: von den gesättigten wässerigen Lösungen werden

gemischt 10 ccm Orange G, 1 ccm Fuchsin S, 3 ccm Methylgrün.

437. M. Heidenhain (92) modifiziert ein ähnliches, von R. Heidenhain (88) empfohlenes Gemisch wie folgt: Von den gesättigten wässerigen Lösungen, welche während mehrerer Tage öfters geschüttelt wurden, werden gemischt: 100 ccm Orange, 20 ccm Fuchsin S, 50 ccm Methylgrün. Zur Färbung wird 1 Teil der Lösung mit 60—100 Teilen Wasser verdünnt. Es wird 24 Stunden gefärbt, mit Wasser gespült, kurz mit Alkohol ausgezogen, Xylol, Balsam (Sublimatpräparate).

438. Die **beste Vorschrift** gibt Krause (11). Da man bei ihrer Befolgung mit Leichtigkeit sehr farbenprächtige Präparate erhält, so sei sie ausführlich wiedergegeben. Die Farbstoffe müssen aus der Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation zu Berlin stammen (auch von Grübler erhältlich), und zwar nehme man die Marken Methylgrün N M P, Säurefuchsin S M P und Orange G M P. 3,4 g der ersten, 4,2 g der zweiten und 3,0 g der dritten Substanz verreibt man in einer Porzellanreibschale auf das sorgfältigste zu einem ganz gleichmäßigen Pulver, das in einem Erlenmeyerkölbchen aus bestem Jenenser Glas mit 100 ccm dest. Wassers übergossen wird. Durch gewöhnliches Glas wird die Farbe rasch verdorben. (Alkali!)[1])

Man läßt die Lösung gut verkorkt unter öfterem Umschütteln 2—3 Tage bei ca. 35° C stehen. Nach völliger Lösung resultiert dann eine dunkelbraune Flüssigkeit mit einem Stich ins Rötliche. Diese langhaltbare Stammlösung wird zur Färbung in folgender Weise verdünnt und angesäuert. In eine Schüttelmensur von 100 ccm Inhalt gibt man 1 ccm Essigsäure, füllt mit destilliertem Wasser auf 100 ccm auf, schüttelt gut durch und gießt den Inhalt aus. Die an der Wand haftenden Säurespuren genügen zur Ansäuerung. Dann mißt man in einem zweiten kleinen Meßzylinder 5 ccm der Stammlösung ab, spült sie mit destilliertem Wasser vollständig in den angesäuerten Zylinder und füllt auf 50 ccm auf. (Lösung einige Tage haltbar.) Die Färbedauer ist meist von geringem Einfluß, es genügen schon 10 Min., man kann aber auch 24 Stunden färben. Nach kurzem Abspülen in 0,5%-Essigsäure überträgt man in 70%-Alkohol, wo starke Farbwolken abgehen. Man soll den Aufenthalt in ihm nicht zu lange

[1]) Um den Einfluß des Glases auf die Farblösung ganz auszuschalten, gießt man am besten in die etwas erwärmte Flasche heißes Paraffin, schwenkt herum und läßt ablaufen, Nach dem Erkalten ist die Glaswand mit einer dünnen Paraffinschicht überzogen. Dies ist auch für viele andere Farblösungen von Vorteil.

ausdehnen, sondern den Schnitt, sobald er rot geworden ist, durch absoluten Alkohol in Xylol übertragen.

Was das zu verwendende Material anlangt, so muß man zwischen Gefrier- und Paraffinschnitten unterscheiden. Von ersteren geben beinahe alle Fixationen vorzügliche Resultate, von Paraffinschnitten nur in Sublimat oder Sublimatgemischen fixiertes Material. Bei Celloidinmaterial ist vor der Färbung das Celloidin zu entfernen. Resultat: Chromatin blaugrün, ebenso Knorpel und Schleim; Mastzellengranula blauviolett; Nukleolen, Kernsaft, Zentriolen, Sphären, Spindeln, Zellprotoplasma, kollagenes und elastisches Gewebe, oxyphile Granulationen, Knochen, Zahnbein rot in verschiedenen Abstufungen. Rote Blutkörperchen orange. Leider blaßt die Färbung häufig bald ab (vergl. auch § 729).

439. Morel und Doleris (02) geben zum Triazid 8% Formol und 1‰ Eisessig. Dadurch soll das Methylgrün in den Kernen gut fixiert werden.

440. Für Übersichtsbilder wie für spezielle Zwecke (vgl. § 739) empfiehlt sich sehr die von **Dominici** angegebene **Orange-Eosin-Toluidinblaufärbung.** Fixierung: Sublimat-, Pikrinsäure- oder Formolgemische (besonders nach Orth (§ 132) oder Maximow (§ 186), abs. Alk. Färbung: Die Schnitte kommen zuerst für 20—30 Min. in eine Orange-Eosinlösung (0,5 g Eosin w. g. + 0,6 g Orange G in 100 ccm dest. Wasser). Sodann werden sie in 60%-Alkohol kurz abgespült und auf ½—2 Min. in Toluidinblau gebracht. (0,5 g Toluidinblau auf 100 ccm dest. Wasser.) Dann differenzieren in 96%-Alkohol, bis keine Farbwolken mehr abgehen, abs. Alkohol, 2—3 Portionen reinstes Xylol, Balsam.

441. Tischkutin gebraucht unter sonst gleichen Bedingungen statt obiger Orange-Eosinlösung eine Mischung von 10 ccm einer zur Hälfte mit Wasser verdünnten filtrierten, konz. wässer. Lösung von **Orange G** und 2 ccm einer konz. Lösung von **Jodeosin** in abs. Alk. Die Färbung wird darin noch kontrastreicher.

442. Sehr empfehlenswert ist ferner die **Azur-Eosinfärbung** in der von Nocht für Schnitte empfohlenen Modifikation. (Vgl. Maximow 09). Fixierung am besten nach Orth, Maximow oder in abs. Alk., doch sind auch andere Sublimat- und Formolgemische zulässig. Färbung: Man bereitet zwei einige Zeit haltbare Stammlösungen: A. wässerige Lösung von Eosin w. g. (Grübler) 1:1000, B. wässerige Lösung von Azur II (Grübler) 1:1000. Zur Färbung werden unmittelbar vor Gebrauch 10 ccm der Lösung A mit 100 ccm Wasser verdünnt; dazu setzt man

unter Umrühren mit einem Glasstab 10 ccm der Lösung B. Man färbt 6—12—24 Stunden. Sodann differenzieren in 96%-Alkohol bis keine blauen Farbwolken mehr abgehen, ½ Min. abs. Alk., 3 Portionen reinsten Xylols, Kanadabalsam. Resultat: Protoplasma bläulich, in verschiedenen Abstufungen, Basichromatin dunkelblau, Oxychromatin rosa, Nukleolen rötlich violett, Hämoglobin leuchtend rosenrot, azidophile Granula, Sekretgranula grellrot usw.

443. Tritt das Eosin zu wenig hervor, wie z. B. bei Amphibienlarven, so mischt man Eosin- und Azurlösung in folgendem Verhältnis: 16 ccm Eosinlösung: 80 ccm Wasser: 8 ccm Azurlösung.

444. Wenn gleich nach Mischung der Lösungen ein grober blauer Niederschlag auftritt, so ist die Lösung unbrauchbar. Meist trägt daran das zur Herstellung verwendete destillierte Wasser schuld; dasselbe muß ganz neutral sein. Ein während längerer Färbung entstehender Niederschlag ist unschädlich.

445. Giemsa (10a) fixiert mit Sublimatalkohol (konz. wässer. Subl.-Lösung 2 T., abs. Alk. 1 T. nach Schaudinn), bettet in Paraffin ein, behandelt die Schnitte mit Jod und Natriumthiosulfat und färbt nach gründlichem Auswässern (zuletzt dest. Wasser!) mit frisch verdünnter Giemsalösung (1 Tropfen auf 1 ccm, bei längerer Färbedauer auf 2 ccm dest. Wasser) 2—12 Stunden, spült in dest. Wasser und führt durch folgende Reihe: a) Azeton 95 + Xylol 5; b) Azeton 70 + Xylol 30; c) Azeton 30 : Xylol 70; d) reines Xylol; e) Zedernholzöl. Die fertige Giemsalösung ist bei Grübler erhältlich. Manchmal empfiehlt es sich auch, zwei Tropfen der Lösung auf 1 ccm Wasser zu nehmen (s. dazu die wichtigen Angaben in § 717f).

446. Panoptisches Gemisch (kombinierte May-Giemsafärbung nach Pappenheim (12). Fixation nach Orth od. Helly. Färbung: a) Vorfärbung in wässerig verdünnter alkoholischer May-Grünwald- oder Jennerlösung (1 T. zu 8 T. dest. Wass.; vgl. § 714) 20 Minuten bei 35° C; b) Um- bzw. Nachfärbung in wässeriger Giemsalösung (10 Tropfen zu 15 ccm dest. Wass.; vgl. § 717) 40 Minuten bei 35° C; c) kurzes Differenzieren in verdünnter Essigsäure (5—6 Tropfen Eisessig : 100 ccm dest. Wass.); d) Auswaschen in dest. Wass.; e) Abtrocknen mit Fließpapier; f) Entwässern in Azeton + abs. Alk. āā; g) Xylol, neutraler Balsam.

Die Methode eignet sich wegen ihrer scharfen Differenzierung von oxychromen, neutrochromen und basochromen Substanzen nicht nur für hämatopoetisches Material, sondern auch

für Übersichtsbilder sonstigen Materials. Für Chromatinstudien ist sie weniger geeignet.

Die Verdünnung der Farblösungen hat unmittelbar vor Gebrauch zu erfolgen. Während der Färbung sind die Lösungen gut zu bedecken. Das zum Entwässern benutzte Azeton muß säurefrei sein (vgl. § 740). Im Übrigen sind hier wie bei der nächsten Färbung auch noch die in § 709—721 gegebenen Vorschriften zu beachten.

447. **Panchromfärbung** nach Pappenheim. Fixation wie § 446. Jodierung und Entjoden mit Thiosulfat. Färbung: Vorfärben in wässerig verdünnter alkoholischer May Grünwaldlösung (1 T. : 8 T. dest. Wass.) 10 Minuten; b) Nachfärben in wässeriger Panchromlösung (10 Tropfen zu 10 ccm dest. Wass.) 20 Minuten; c) Differenzieren in 0,1%iger wässeriger Pikrinsäure, bis der Schnitt rötlich aussieht; d) Auswaschen in dest. Wasser (ca. 5 Minuten), Abtrocknen mit Fließpapier. Azetonxylol (3 : 7); Fließpapier; Azetonxylol. Xylol, Neutraler Balsam.

448. Das Panchrom-Gemisch besteht aus: Methylenblau 1,0; Toluidinblau 0,5; Azur I 1,0; Methylenviolett 0,5; Eosin 0,75; Methylalkohol 250,0; Glyzerin 200,0; Azeton 50,0. (Es wird am besten fertig von Grübler bezogen.)

449. Salkind (12) empfiehlt folgendes polychromes Farbgemisch **(T-E-N)**, das nach seinen Angaben nach jeder beliebigen Fixierung mit Erfolg anwendbar ist: Man mischt folgende vier Lösungen in der angegebenen Reihenfolge: 1. Gesättigte Lösung von Toluidinblau in dest. Wasser mit 3% Formolgehalt: 12 ccm; 2. 90%iger Alkohol: 8 ccm und Azeton: 4 ccm; 3. gesättigte Lösung von Naphtholgelb in 90%igem Alkohol: 2 ccm; 4. gesättigte Lösung von Erythrosin pur. in 90%igem Alk.: 3 ccm. Dazu gibt man sogleich 5—10 ccm dest. Wasser und läßt stehen. Nach einigen Minuten muß die Flüssigkeit rein blau (mit einem Stich ins Violette) sein und keinen suspendierten Niederschlag enthalten, ev. muß filtriert werden. Zur Färbung kommt das Präparat auf 5—10 Minuten (oder länger) aus abs. Alkohol in die Farbe, dann in abs. Alkohol, Xylol, Balsam. Resultat: Knorpel, Schleim, Mastzellkörner: violett; Chromatin, basophile Substanzen: blau; Blut: grün; Keratin, Chitin: gelb; Muskeln: orange; azidophile Substanz: rot; neutrophile Granula: grau. Ich persönlich bekam weder mit dem von Grübler bezogenen, noch mit den unter den verschiedensten Variationen hergestellten Gemischen derartige Resultate. Von großem Einfluß erschien mir u. a. auch die Art der Fixierung, durch die die Farbtöne nach meinen Beobachtungen sehr stark beeinflußt werden.

10. Kapitel. **Vitale Färbung.**

450. Als **vitale Färbung** bezeichnet man Färbungsmethoden, welche am lebenden Tier (oder an lebenden Zellen) mit Erfolg vorgenommen und von diesen ohne sichtlichen Schaden längere Zeit ertragen werden (Fischel 10). Nur in einzelnen Fällen handelt es sich dabei um die Färbung präformierter Strukturen (z. B. Fibrillen, Mitochondrien, Kerne); bei den meisten Methoden treten dagegen im Protoplasma bestimmter Zellen Farbstoffkörnchen auf, die besonders bei Färbung mit sauren Farbstoffen erst unter dem Einfluß der Farbstoffe entstehen (v. Möllendorff (15), Schulemann (17) u. a.). Das Absterben der Zellen hat meist eine Veränderung der Färbung zur Folge, die nun meist auf andere, während des Lebens ungefärbte Zellbestandteile, z. B. den Kern, übergeht. Dieser Wechsel ist für die Beurteilung der Färbung (intra-, supra- oder postvital, Arnold (14)) von großer Bedeutung. Die Aufgaben und Ziele der Vitalfärbung sind sehr mannigfaltig. Sehr wertvoll ist sie (meist als Supravitalfärbung) zur Darstellung nervöser Elemente (Ehrlich, Dogiel u. a.). Fischel, Arnold, Goldmann, Asschoff, v. Möllendorff u. a. bahnten mit ihr neue Wege für histologische und besonders histophysiologische Untersuchungen. (Auffindung besonderer, morphologisch kaum unterscheidbarer Zelltypen, Erkennung von Sekretionsvorgängen usw.) Von besonderer Bedeutung ist ferner, daß zwischen der Verteilung der Farbstoffe und jener gewisser Arzneimittel große Ähnlichkeit besteht (Schulemann).

451. Nach Schulemann (17) können chemische Reaktionen zwischen Zelle und Farbstoff nicht die Ursache der Vitalfärbung sein (Versagen der Seitenkettentheorie). Dagegen besteht weitgehende Übereinstimmung zwischen dem physiko-chemischen Verhalten der Farbstofflösungen und ihrem Vitalfärbungsvermögen. Der Vorgang der Vitalfärbung setzt sich zusammen aus 1. der Verteilung der Farbstoffe im Tierkörper, 2. aus ihrer Speicherung in den vital färbbaren Zellen. Für Punkt 1 ist das physiko-chemische Verhalten der Farbstofflösungen maßgebend. Bei geringem oder fehlendem Diffusionsvermögen kommt es nur am Injektionsort zu einer Vitalfärbung. Mit wachsender Diffusionsgeschwindigkeit steigt das Vermögen, allgemein vital zu färben, so daß man bei einer gewissen mittleren Diffusionsgeschwindigkeit zu allgemein wirkenden Vitalfarbstoffen gelangt, die für histologische Untersuchun-

gen besonders geeignet sind; bei sehr hoher Diffusionsgeschwindigkeit geht dagegen Färbung und Entfärbung innerhalb weniger Stunden vor sich, wobei der Organismus nur noch diffus durchtränkt wird. Für die Speicherung der Farbstoffe in den vital färbbaren Zellen (Punkt 2) können diese physikalischen Gründe allein nicht ausreichend sein. Hier spielen wahrscheinlich (ähnlich wie bei der Phagozytose) auch noch Oberflächenspannungsänderungen an den Zellgrenzen eine Rolle. Unter dem Einfluß der diffus ins Protoplasma gelangenden Farbstofflösung kommt es zunächst zur Bildung von Vakuolen, in denen sich mehr und mehr der Farbstoff konzentriert. Gelangen genügende Farbstoffmengen in das Protoplasma, und neigt der Farbstoff an sich zur Molekülaggregatbildung, so wird mit wachsender Konzentration die Polymerisation der Farbstoffe fortschreiten, bis es endlich zur Bildung mikroskopisch sichtbarer Konkremente kommt. Wachsen diese weiter, so füllen sie unter Apposition mehr und mehr die Vakuole aus, bis sie frei als Farbstoffkorn im Protoplasma liegen.

452. Die Farbstoffe können auf die verschiedenste Weise dem Organismus einverleibt werden, so durch Fütterung vom Munde oder vom Darme aus, durch Einreibung in die Haut (gewisse Arzneistoffe, Tätowierung), durch Einspritzung in die Blut- oder Lymphbahn (intravenös, subkutan, pleuroperitoneal usw.). Wassertiere können direkt in toto in die Farblösung gebracht werden. Ferner können auch Organe oder Organfragmente, solange solche lebend erhalten werden können, in entsprechender Weise gefärbt werden (Einlegen in Farblösung, Einspritzung derselben durch die Blutgefäße, Durchrieselung unter Sauerstoffzufuhr usw.). Um einzelne Zellen unter dem Mikroskop zu färben, kann man auch etwas Farblösung auf dem Deckglas antrocknen lassen und dieses dann auf das flüssigkeitbedeckte Präparat legen.

Von den verschiedenen, der Vitalfärbung dienenden Methoden seien als wichtigste die folgenden angeführt:

453. Methylenblau findet, von Ehrlich (85) dazu zuerst empfohlen, ausgedehnte Verwendung zur vitalen Nervenfärbung bei Wirbeltieren. (Darstellung der gebräuchlichsten Methoden siehe § 1043—1048.)

454. Zur Färbung des Nervensystems niederer Tiere (Cölenteraten, Würmer, Mollusken, Tunikaten usw.) nach Apathy, Bethe, Freidenfeld, Retzius u. a. wird eine erforderliche Menge der 1% - Stammlösung von Methylenblau dem Wasser, in dem das Tier untergebracht ist, zugesetzt. Lö-

sungen von 1 : 100 bis 1 : 1000 und schwächere geben die besten Resultate (Dogiel 10, Michailow 10). Auch wurden Methylenblaulösungen in die Organe und Körperhöhlen eingeführt (Fütterung oder Injektion) und so Färbungen erzielt.

455. Neutralrot (von Ehrlich in die Technik eingeführt) kann zur Vitalfärbung per os, subkutan oder intravenös verabreicht werden. So färben sich z. B. Kaulquappen oder Tritonenlarven, welche man statt in Wasser in einer Neutralrotlösung 1 : 10000 bis 100000 hält (Fischel), in 1—2 Tagen dunkelrot. Die Färbung beruht auf dem Auftreten roter Granula im Zellprotoplasma (Kerne ungefärbt!).

456. Zur Untersuchung gewöhnlicher Zupfpräparate kann man der physiologischen Kochsalzlösung Neutralrot zusetzen. Durch Alkali wird das Rot des Farbstoffes in Gelb umgewandelt, wodurch unter Umständen Schlüsse auf die Reaktion eines gefärbten Zelleinschlusses möglich werden. An fixierten Objekten färben sich die basophilen Substanzen, wie Chromatin, Nißlsche Granula, Schleim, Knorpel usw. rot, die azidophilen Bestandteile gelb, die Mastzellengranula orange.

457. Arnold (11) verfütterte Neutralrot zur Granulafärbung im Magen und Darm. Fixierung durch Formoldämpfe nach Groß.

458. Nach Loeb L. (07) färben sich Zellen (Eier von Asterias) in Lösungen von Neutralrot, Eosin, Methylenblau usw. verschieden, je nachdem sie sich dabei im Licht oder im Dunkeln befinden.

459. Cesaris-Demel (09) bringt zur Frischfärbung Brillantkresylblau und Sudan III in trockenem Zustand an das Plasma heran, so daß sie sich direkt im Plasma lösen und an denjenigen Teilen fixieren, für welche sie eine Affinität haben.

460. Lange bekannt ist die schon von Lieberkühn, Kölliker u. a. zum Studium des Knochenwachstums benutzte Eigenschaft des **Krapps** (Wurzel von Rubia tinctorum), bei Verfütterung lebende, neu sich bildende Knochensubstanz zu färben (s. § 910). Ebenso wirkt das aus dem Krapp gewonnene, wie auch das synthetisch hergestellte **Alizarin.** Gottlieb (14) färbt durch parenterale Einverleibung von alizarinsulfosaurem Natrium elektiv das ganze Knochensystem.

461. A. Fischel (08a) erzielte bei Cladoceren durch Zusatz von Alizarin. sicc. zu dem Wasser, in dem die Tiere leben, eine vitale und gleichzeitig spezifische Nervenfärbung. Die Färbung tritt bei einigen Tieren schon nach Stunden ein.

462. Nilsson (09) färbte bei Würmern in konz. Lösung von Alizarin in 12—24 Stunden auch Drüsensekret und Blutgefäße.

463. Die Vitalfärbung der Mitochondrien gelang zuerst Michaelis (00) mit **Janusgrün**; Cowdry (14) empfiehlt dazu das Janusgrün der Höchster Farbwerke 1 : 10000 in 0,85% NaCl; bei der Färbung muß der Luftsauerstoff genügend Zutritt haben. Bei Blut bringt C. einen Tropfen der Farblösung auf einen erwärmten Objektträger, setzt einen Tropfen Blut zu und legt, ohne zu mischen, sofort ein Deckglas auf. Die Färbung hält 1 bis 2 Stunden

464. Nach Lewis W. H. and M. R. (15) ist Janusgrün selbst in Verdünnung 1 : 200000 für die Zellen noch giftig, so daß sie in wenigen Stunden absterben. Debeyre (12) färbt mit einer Mischung von Janusgrün und Neutralrot gleichzeitig Mitochondrien und Sekretkörnchen.

465. Goldmann (09 und 12) benutzt **Trypanblau** oder **Pyrrolblau** zur Vitalfärbung. Der Farbstoff wird in 1%iger Lösung in Wasser oder besser in physiologischer Kochsalzlösung subkutan oder intraperitoneal injiziert (1 ccm Lösung pro 20 g Körpergewicht). Nach der Injektion wird der Farbstoff zur Beschleunigung der Resorption durch leichtes Massieren verteilt. Die Injektionen werden in mehrtägigen Abständen solange wiederholt, bis das Tier ganz blau ist (bei Mäusen z. B. 10—12mal). Fixierung in 10%iger Formollösung. Gefrierschnitte. Besonders Trypanblau verträgt aber auch Paraffineinbettung. Schulemann (12) fixiert in 20—25%iger Formollösung. Trypanblau kann nach Tschaschin (13) ohne Schaden auch intravenös gegeben werden (bei Kaninchen z. B. 10 ccm einer 1%igen Lösung in 0,85%iger NaCl-Lösung, alle 2 Tage, bis blau gefärbt).

466. Vonwiller (15, 18) und Skraup (16, 17) fixieren Vitalfärbungen (von Protozoen) durch basische Farbstoffe wie Brillantkresylblau, Neutralrot, Methylenblau, Bismarckbraun, ferner Nilblau, Aurantia u. a.) mit Sublimat.

Die Färbung verträgt dann sogar Einbetten in Paraffin. Karbolxylol ist zu vermeiden, Benzol oder Chloroform ist unschädlich. Auch Przemicky (97 u. 00), Golowin (02) und Colombo (03) verwandten mit Erfolg die Sublimatfixierung. Die Fixierung beruht nach Skraup wahrscheinlich auf Entstehung schwerlöslicher Substitutionsprodukte zwischen der NH_2-Gruppe bzw. $N(CH_3)_2$-Gruppe des Farbstoffes und dem Quecksilber, während nach Vonwiller (18) auch der gefärbte Plasmateil dabei eine wichtige Rolle spielt.

467. Über Doppelfärbung mit sauren und basischen Farbstoffen vgl. u. a. neuerdings Herzfeld (17) und Steckelmacher (18).

468. Die von Ribbert angewandte Methode der vitalen Karminspeicherung benutzt Kiyono (14) wie folgt: Eine kalt gesättigte Lösung von Lithiumkarbonat wird mit einem Zusatz von 5 Gewichtsprozent besten Karmins (Grübler) 10—15 Minuten auf dem Wasserbad gekocht. Direkt vor Gebrauch wird filtriert. Man injiziert mehrere Tage 4—8 ccm intravenös (subkutane oder intraperitoneale Injektion ungeeignet). Fixierung in Alkohol, Formol oder Sublimat. Paraffineinbettung. Kernfärbung mit Hämalaun.

469. Unterschied zwischen Trypanblau und Karmin. Für intravenöse Verabreichung ist Karmin, für subkutane Trypanblau vorzuziehen; im übrigen sind die Resultate gleich.

11. Kapitel. **Das Einschließen der Präparate.**

470. Zur Untersuchung und Konservierung werden die nach den vorausgehenden Methoden behandelten Präparate gewöhnlich noch in ein besonderes **Einschlußmedium** gebracht, wenn sie auch an und für sich in jeder der vorausgehenden Flüssigkeiten untersucht werden können. Von dem Einschlußmedium ist zu fordern, daß es die Präparate durchsichtig erhält, ohne zum mindesten für die Dauer der Untersuchung ihre Struktur und Farbe zu schädigen. Die Einschlußmedien kann man im großen ganzen in **zwei Gruppen** trennen, je nachdem sie **mit Wasser mischbar oder unmischbar** sind. Beim Einschließen in ein Medium der ersten Gruppe, zu welcher die Methoden mit Glyzerin, Gummisirup, Lävulose und Gelatine zu rechnen sind, ist eine völlige Entfernung des Wassers aus den Präparaten unnötig. Bei Anwendung einer Methode der zweiten Gruppe dagegen muß das Präparat vor dem Einschluß **auf das sorgfältigste entwässert** werden; hieher zählen die Einschlußmethoden mit Harzen und Ölen. Die Wahl der Methode wird durch die Zwecke, die man bei der Herstellung des Präparates verfolgt, bestimmt.

471. Der Einschluß in **Glyzerin** kommt hauptsächlich dann in Betracht, wenn die Schnitte vor dem Einschluß nicht mehr mit Alkohol, Xylol od. dgl. in Berührung kommen sollen, also z. B. bei Gefrierschnitten, welche auf Fette oder Lipoide untersucht werden sollen, bei alkohollöslichen Färbungen u. dgl. Für gewisse Untersuchungen (z. B. bei Beobachtung ungefärbter Präparate) ist auch die geringere Lichtbrechung des Glyzerins ($nD = 1{,}456$) von Wert.

Nachteilig ist, daß sich sehr viele Färbungen, insbesondere die Hämatoxylinfärbungen, in ihm nur schlecht halten.

472. Zum Einschluß breitet man das im Wasser liegende Präparat auf dem Objektträger sorgfältig aus, saugt das überschüssige Wasser mit Filtrierpapier ab, ohne das Präparat selbst zu berühren, bringt einen Tropfen Glyzerin darauf und legt unter Vermeidung von Luftblasen ein Deckglas auf. Soll das Präparat aufgehoben werden, so muß es umrandet werden (s. § 478).

473. Zu beachten ist, daß Glyzerin aus der Luft Wasser anzieht. Sehr zarte Präparate deckt man mit einer Mischung von 1 Teil Glyzerin und 1 Teil 80%-Alkohol (oder Wasser) ein und legt das Präparat zur allmählichen Entfernung des Wassers vor dem Umranden in einen mit Chlorkalzium beschickten Exsikkator.

474. Glyzeringelatine. Herstellung: Man weicht 7 g feinste Gelatine 2 Stunden lang in 42 ccm Aqua dest. ein, setzt 50 g Glyzerin und 1 g konz. Karbolsäure zu, erwärmt unter Umrühren 10—15 Minuten, filtriert heiß durch angefeuchtete Glaswolle oder im Heißwassertrichter und läßt erkalten.

Zum Einschließen bringt man von der erstarrten Masse ein kleines Stückchen auf einem Deckglas durch vorsichtiges Erwärmen zum Schmelzen, dreht rasch um und legt den hängenden Tropfen auf das Präparat, wo sich die Masse rasch ausbreitet und erstarrt. Man kann auch das Röhrchen mit Glyzeringelatine in warmes Wasser stellen, einen Tropfen der verflüssigten Masse mit einem Glasstäbchen auf das Präparat bringen und rasch ein Deckglas auflegen. — Auch in Glyzeringelatine ist die Haltbarkeit der meisten Färbungen schlecht.

475. Statt Glyzerin wird auch eine gesättigte wässerige Lösung von **Kalium aceticum** gebraucht, welche die Anilinfarben meist weniger angreift wie Glyzerin. O. Schultze (07) empfiehlt eine Mischung von Kalium aceticum, Methylalkohol und Wasser $\widetilde{aa}$. (nD = 1,370).

476. Für spezielle Zwecke, z. B. Amyloidfärbung, wird aus Wasser in **Lävulose** eingeschlossen. Man rührt 30 g Fruchtzucker mit 20 ccm Wasser an und läßt ihn 24 Stunden bei 37° C stehen. Die Lösung muß ganz dick sein. Der Sirup, der allmählich ganz fest wird, greift Anilin- und Karminfärbungen nicht an. Hämatoxylin-Färbungen werden dagegen nach einiger Zeit zerstört.

477. Apathys Gummisyrup wird auf dem Wasserbad aus 50 g reinem Gummi arabicum, 50 g Rohrzucker, 50 ccm Aqua dest. und 1 ccm Formol hergestellt. Die rasch erhärtende Einschlußmasse ist stark sauer (cave für Hämatox.-Präparate).

478. Umranden. Präparate, die in flüssigen Medien eingeschlossen werden, müssen umrandet werden. Vorbedingung dafür ist, daß die Einschlußflüssigkeit nicht über den Rand des Deckglases vordringt. Ist dies doch geschehen, dann muß die Verunreinigung vorher mit Filtrierpapier und etwas abs. Alkohol vorsichtig entfernt werden oder man streut auf die benetzten Stellen etwas Bleiglätte, die sich mit dem Glyzerin zu einem Kitt verbindet, der dann mit dem Messer entfernt werden kann.

479. Zum Umranden nimmt man am besten eine sirupdicke Lösung von **Kanadabalsam** in **Terpentinöl**, die man mit einem Glasstäbchen dem Deckglasrand entlang aufträgt.

480. Viel gebraucht sind auch dünne **Wachskerzchen.** Man zündet sie an, löscht sie gleich wieder aus, fixiert das Deckglas an zwei gegenüberliegenden Ecken mit zwei kleinen Wachströpfchen und streicht nun mit dem Docht, an dem das geschmolzene Wachs herunterläuft, rasch an den Kanten des Deckglases entlang, indem man diese und die anschließenden Objektträgerteile mit einem etwa 0,5 cm breiten Streifen bedeckt. Später wird der Wachsrahmen noch gefirnißt (§ 483).

481. Apathy empfiehlt zum Umranden eine Mischung von trockenem Kanadabalsam und Paraffin (60° Schmelzpunkt). Gleiche Teile dieser Substanzen werden in einer Porzellanschale zum Schmelzen gebracht und gemischt. Einen Tropfen der geschmolzenen Substanz führt man mit einem erwärmten Glasstab an den Seiten des Deckglases entlang.

482. Auch der **Krönigsche Lack** (86) ist eine gute Umrandungsmasse. Anfertigung: 2 Teile Wachs werden geschmolzen, hiezu stückweise 7—9 Teile Kolophonium unter Umrühren zugesetzt (Vorsicht, feuergefährlich!). Man kann durch Gaze heiß filtrieren.

483. Es empfiehlt sich, die Umrandungen noch zu **firnissen.** Man benutzt dazu am besten einen **Bernsteinlack** oder den bei Grübler käuflichen **Asphalt-** oder **Maskenlack,** doch bekommen die beiden letztgenannten leicht Sprünge.

484. Einschluß in Gelatine. Um die Deckgläser und den Kanadabalsam durch etwas Billigeres zu ersetzen, bringt Edinger (13) die einzudeckenden Schnitte aus Wasser für 1 Stunde in eine 10%-Lösung von feinster photographischer Gelatine (Deutsche Gelatinefabrik Höchst), der 2% Glyzerin zugesetzt sind. Sodann kommen sie auf den Objektträger, auf dem ein Überguß mit der gleichen Gelatine vorher etwas erstarrt ist; hier werden sie nochmals mit Gelatine übergossen. Alle diese Prozeduren werden

auf einem Tellerwärmer bei etwa 40° C vorgenommen. Die fertigen, zunächst noch undurchsichtigen Schnitte läßt man abkühlen, taucht sie dann für eine halbe Stunde in 10%ige Formollösung, wodurch der Leim in Wasser unlöslich wird, und läßt sie trocknen, wobei die Schnitte genau so durchsichtig wie in Kanadabalsam werden. Die Deckschicht ist steinhart und so dünn, daß auch Anwendung von Ölimmersionen möglich ist. Das Verfahren eignet sich für Markscheidenfärbung (Marchi-Präparate), Silberfibrillen, Karmin-, Hämatoxylin- und Sudanfärbungen, dagegen ist es für alle wasserlöslichen Anilinfärbungen unbrauchbar. Die Gelatinelösung (nicht über 45° C erhitzen!) muß jedesmal neu bereitet werden, weil mehrmals erhitzte in eine andere Modifikation übergeht, die zum Springen neigt.

485. Am gebräuchlichsten ist der **Einschluß in Harze,** z. B. in **Kanadabalsam,** welche zunächst in Lösung auf den Schnitt gebracht werden und dann fest werden. Vorbedingung für diesen Einschluß ist vollkommene Entwässerung des Präparates. Zu beachten ist das hohe Lichtbrechungsvermögen der Harze, wodurch ungefärbte Gewebsstrukturen oft beinahe unsichtbar werden.

486. Anfertigung des **Kanadabalsams:** Zu einigen Stücken des neutralen Kanadabalsams von Grübler oder des zur Glashärte getrockneten reinsten Kanadabalsams von Merck setzt man soviel ganz reines Xylol, daß man eine Flüssigkeit von der Konsistenz eines dünnflüssigen Honigs bekommt. Der gewöhnliche Kanadabalsam ist wegen seiner sauren Reaktion für viele Färbungen schädlich.

487. Um Kanadabalsam zu neutralisieren, gibt man in eine dünnflüssige Lösung desselben etwas Kaliumkarbonat und erhitzt auf dem Sandbad so lange, bis er beim Erkalten eine glasharte, spröde Masse bildet.

488. Als Balsamflaschen benützt man weithalsige Flaschen mit übergreifender aufgeschliffener Kappe, deren Schliff mit etwas Glyzerin eingerieben wird. Im Innern steht ein dünnes Glasstäbchen, mit dem der Balsam in Tropfen entnommen wird.

489. Einschluß in Kanadabalsam. Man nimmt den vorher sorgfältig entwässerten Schnitt auf einem Objektträger aus reinem Xylol oder Toluol, läßt abtropfen (austrocknen ist peinlichst zu vermeiden), bringt rasch einen Tropfen Kanadabalsam darauf und legt unter Vermeidung größerer Luftblasen das Deckglas auf. Man hüte sich, den Objektträger dabei anzuhauchen, da hierbei sich niederschlagendes Wasser störende Trübungen gibt. Im Laufe

der Zeit verdunstet das Xylol und der Balsam wird fest. Sollte dabei der Balsam nach einigen Wochen den Raum unter dem Deckglas nicht mehr völlig ausfüllen, so setzt man an den betreffenden Rand des Deckglases einen Tropfen Kanadabalsam, der dann, allenfalls unter leichtem Erwärmen, in die Lücke eindringt. Zum Ausgleichen von Falten, und um die Balsamschicht möglichst dünn zu bekommen, setzt man auf das Deckglas für einige Stunden ein kleines Bleigewicht. Zur Beschleunigung des Trocknens kann man die eingedeckten Präparate für einige Tage in den Thermostaten (bei ca. 37° C) legen.

490. Salkind (13) löst 1 g **Dammarharz** in 10 g **Zedernöl** und filtriert durch Seide. In diesem Einschlußmedium sollen sich auch sehr empfindliche Anilinfärbungen jahrelang halten.

491. Für Färbungen, die sich in Kanadabalsam nicht erhalten lassen, ist häufig der Einschluß in **Terpineol** (P. Mayer) empfehlenswert. Dasselbe greift mit wenigen Ausnahmen auch zarte Färbungen nicht an und ist etwas weniger lichtbrechend ($nD = 1{,}483$). Hernach Umrandung mit Gummisirup oder besser mit 15%iger Gelatine, worauf man zur Härtung 1 Stunde lang Formoldämpfe einwirken läßt. Ebenso ist **Zedernöl** oft sehr geeignet, z. B. bei Osmierungen, die sich in Xylol usw. lösen). Auch Benzylalkohol läßt sich verwenden (s. § 199).

492. In **Euparal** ($nD = 1{,}483$), das viele Färbungen gut erhält, können die Präparate schon aus 80%igem Alkohol gebracht werden (P. Mayer).

493. Für osmierte Präparate, deren Schwärzung erhalten bleiben soll, eignet sich besonders **Paraffinum liquidum** ($nD = 1{,}482$), in das die Präparate aus Xylol, Toluol oder Terpineol übertragen werden. Hierauf Umrandung nach § 479 oder 491.

494. Methode von **Spalteholz** (11) zum **Aufhellen** größerer Präparate. Die betreffenden Objekte werden in Formol od. dgl. fixiert, sodann gut ausgewaschen, ev. mit H_2O_2 gebleicht, in steigendem Alkohol völlig entwässert und in Benzol übertragen. Nach 2—3maligem Wechseln kommen sie in die Aufhellungsflüssigkeit, die in ihrer Zusammensetzung je nach dem Objekt etwas wechselt. Für erwachsene menschliche Knochen nimmt man 5 Gew.-Teile Wintergrünöl und 3 Benzylbenzoat oder 3 Wintergrünöl und 1 Isosafrol; für größere menschliche Embryonen 2 W : 1 B bzw. 18 W : 5 I; für jüngere 3 W : 1 B bzw. 27 W : 5 I; für jüngste 5 W : 1 B bzw. 9 W : 1 I. — Das Verfahren bietet auch für sehr dicke Schnitte, z. B. injizierte Präparate Vorteile. Nachdem die Präparate in die Endflüssigkeit, in der sie auch eingeschlossen werden,

eingetragen sind, müssen unter der Luftpumpe die in ihnen enthaltenen Benzol- und Luftreste sorgfältig evakuiert werden. — Blutgefäße werden häufig vorher mit gefärbten Massen injiziert (s. auch § 840 f, s. ferner § 882).

495. Zur **Konservierung anatomischer Präparate** in ihrer Eigenfarbe sind besonders die Gemische von Kaiserling oder Jores zu empfehlen.

Methode von **Kaiserling**: Fixation in Formalin 200 ccm; Wasser 1000 ccm; Kalium nitric. 15 g; Kal. acetic. 30 g. Nach 1 bis mehreren Tagen behandelt man ohne Auswaschen in 80%igem Alkohol, bis die Blutfarbe wiederhergestellt ist. Dann überträgt man in ein Gemisch von Wasser 2000 ccm; Kalium acetic. 200 g; Glyzerin 400 ccm.

496. Jores (13) fixiert 1 bis mehrere Tage in: künstlichem Karlsbadersalz 50 g, Formol 50 ccm; konz. wässer. Chloralhydratlösung 50 ccm; Wasser 1000 ccm. Nach 6—24stündigem Auswaschen kommen die Stücke in Kalium acetic. 300 g, Glyzerin 600 ccm, Wasser 1000 ccm.

12. Kapitel. **Rekonstruktionsmethoden**

von G. Born, Breslau

mit Ergänzungen vom Herausgeber.

497. Eine **körperliche Anschauung** der zelligen Elementarteile läßt sich meist leicht aus einem und demselben Schnitte durch sukzessives Einstellen der aufeinanderfolgenden optischen Durchschnittsebenen gewinnen; wo dies wegen der ungewöhnlichen Form oder Ausdehnung der Elementarteile Schwierigkeiten macht (Purkinjesche Zellen der Kleinhirnrinde), da hilft die Kombination von Bildern, die mehreren, verschieden orientierten Schnitten entnommen sind.

Schwieriger wird das Gewinnen körperlicher (dreidimensionaler) Anschauungen mitunter schon bei den sich zunächst aus Zellen aufbauenden Organulis; — wurden doch die Endteile vieler Drüsen nach den einzelnen Schnittbildern bis vor kurzem fälschlich als »azinös« (beerenförmig) bezeichnet, während es in Wirklichkeit alveoli, — längere, aber mannigfach hin- und hergebogene und ausgebauchte Schläuche sind. In vielen solchen Fällen führt die Benutzung stark aufgehellter Dickschnitte und der bei der älteren Histologenschule vielbeliebten spezifischen Mazerationsmittel (Holzessig, Salzsäure, starke Alkalien u. dgl. mehr) zum Ziele; gewisse Objekte dieser Art hat man jedoch aus den Schnitten rekonstruieren müssen (körperliche Form der Schilddrüsenfollikel nach J. Streiff u. dgl.).

Es bleibt aber noch eine große Zahl von anatomischen und namentlich von embryologischen Objekten übrig, die einerseits zu klein und von zu komplizierter Form sind, als daß sich von ihnen durch Präparation und direkte Betrachtung mit der Lupe oder mit schwachen Mikroskopvergrößerungen eine ausreichende körperliche (plastische) Vorstellung erwerben ließe, die aber anderseits viel zu groß und wieder zu kompliziert sind, als daß aus einzelnen Schnitten oder aus Mazerationspräparaten ihre Form (namentlich auch die der Binnenräume) richtig erschlossen werden könnte. In diesen Fällen ist man gezwungen, eine Rekonstruktion solcher Gebilde aus den Bildern, die die aufeinanderfolgenden Schnitte einer Serie gewähren, auszuführen.

498. Die Rekonstruktion kann entweder eine **flächenhafte** (rein zeichnerische) sein, bei der die Tiefendimension nur durch Verkürzung und Schattierung in der Fläche einigermaßen dargestellt wird, oder sie ist eine **körperliche** — plastische. In beiden Fällen wird die Rekonstruktion wohl immer mit einer mehr oder weniger erheblichen Vergrößerung verbunden sein. Wie leicht verständlich, erscheint die zeichnerische Rekonstruktion häufig nur als ein provisorisches Hilfsmittel und muß auf leichtere Fälle beschränkt werden.

Alle Rekonstruktionsmethoden sind mühsam und zeitraubend; man vermeide sie also, wenn man mit anderen Hilfsmitteln, mit Präparation, Mazeration, Injektion, Korrosion usw. auskommt; anderseits kann nicht genug davor gewarnt werden, sich auf die vielfach beliebte »Rekonstruktion im Kopfe« (aus den Schnittbildern) bei irgendwelchen schwierigen Objekten zu verlassen. Außerdem liefern namentlich die plastischen Rekonstruktionen vergrößerte und darum leichter demonstrable Präparate.

499. Die Voraussetzung jeder Rekonstruktion ist die Herstellung einer **lückenlosen Serie** von parallelen Schnitten durch das Objekt, — eine Forderung, die (mit Ausnahme einiger besonderer Konstruktionen) mit allen modernen Mikrotomen leicht zu erfüllen ist. Meist wird die Serie gleichmäßig dick sein; — doch kann es sich in besonderen Fällen empfehlen, zwischen dickere Schnitte in bestimmten Abständen einen halb so dünnen einzuschalten. Unter allen Umständen muß die Schnittdicke bestimmt und bekannt sein; man wähle je nach der Größe und Schneidbarkeit des Objekts Schnittdicken von

6, 8, 10, 12, 15, 20 μ. Die **Schnittrichtung** ist zwar theoretisch beliebig, in praxi aber ist meist eine zu der Hauptachse des Objekts parallele oder senkrechte Richtung zu bevorzugen.

Stückfärbung ist der Schnittfärbung durchaus vorzuziehen; ebenso Paraffin- oder Zelloidineinbettung. Noch besser ist Einbettung in Zelloidin-Paraffin nach § 238, da bei ihr Verschiebungen und Faltungen besser vermieden werden als bei Paraffineinbettung. Als ideale Methode für Rekonstruktionsserien bezeichnet Apathy die Einbettung in Ölgelatine (nach § 239). Unter allen Umständen müssen die Schnitte in richtiger Aufeinanderfolge ganz glatt — ohne irgendwelche Verschiebung (auch von ringsum isolierten Teilen!), ohne Verzerrung und Faltenbildung auf den Objektträger aufgelegt und aufgeklebt werden. Die hierfür gebräuchlichen und empfehlenswerten Verfahren siehe § 503 und § 1442.

Die Zuverlässigkeit und Schönheit jeder Rekonstruktion hängt durchaus von der Vollkommenheit der Schnittserie ab; man verschwende keine Mühe und Zeit mit Rekonstruktionsversuchen aus lückenhaften, ungleichen und schlecht aufgelegten Serien!

500. Methoden von **Rekonstruktionen in der Fläche:**

1. Die Herstellung eines Bildes, dessen Fläche senkrecht zur Schnittebene der Serie liegt (projektive Konstruktion nach His, das älteste und auch jetzt noch vielfach und mit Erfolg benützte Verfahren).

Beispielsweise Aufgabe: Es sei das Bild der Organe eines kleinen menschlichen Embryos im Medianschnitte nach einer gleichmäßigen Querschnittserie von 20 μ Dicke in 60facher Vergrößerung herzustellen. — Lösung: Von dem in Zedernholzöl (od. dgl.) aufgehellten, im Stück gefärbten Embryo werden möglichst vielseitige Zeichnungen bei bestimmter (5- oder 10facher) Vergrößerung abgenommen; für unser Beispiel ist eine genaue Profilzeichnung notwendig. (Die Zeichnungen sind womöglich, während der Embryo im flüssigen Paraffin liegt, zu wiederholen.)

Jeder Schnitt der 20 μ dicken Querschnittserie ist bei 50facher Vergrößerung zu zeichnen, um diesen Zeichnungen die nötigen Maße direkt entnehmen zu können. Arbeitet man a) ohne Richtebene (siehe § 508), so muß die Schnittrichtung genau bekannt sein, — oder dieselbe muß durch Vergleich der Lage bestimmter Punkte in den Schnitten und im Profilbilde aufgesucht und in dieses eingetragen werden. Arbeitet man b) mit Richtebene, so ist die genaue Fixierung der Schnittrichtung entbehrlich.

Ad a). Eine Pause der auf 50mal gebrachten Profilzeichnung wird so auf »Millimeterpapier« geklebt, daß die Querlinien des Papiers der bekannten oder nachträglich bestimmten Schnittrichtung genau parallel laufen; nun numeriert man die Querlinien vom Kopfende an, entsprechend den Schnittnummern und trägt auf jeder Linie die Abstände, die die Organe auf der 50fach vergrößerten Zeichnung des zugehörigen Schnittes in der Medianlinie vom Umriß der Profilzeichnung und voneinander zeigen, ab. Die Verbindung der entsprechenden Punkte gibt dann den Umriß der betreffenden Organe im Medianschnitte.

Ad b). Die Medianlinie jedes 50 mal vergrößerten Schnittbildes wird so weit verlängert, bis sie die mitgezeichnete Richtlinie schneidet. Die Medianschnittpunkte der Richtlinien werden in der Reihenfolge der Schnitte auf einer Senkrechten des Millimeterpapiers markiert und numeriert. Die Abstände, welche die Umrißlinien und die Organe in der Medianlinie auf den 50mal vergrößerten Zeichnungen von diesen Punkten zeigen, werden an den zugehörigen Horizontalen des Millimeterpapiers abgetragen und die entsprechenden Punkte der aufeinanderfolgenden Linien miteinander verbunden. Bei diesem Verfahren entsteht der Umriß des ganzen Embryos erst nachträglich, zugleich mit den Umrissen der Organe bei der Konstruktion des Medianschnittes.

Es ist klar, daß sich nach dieser Methode auch laterale Teile, auf die Medianebene projiziert, darstellen lassen, so daß man z. B. nicht nur den Umriß, sondern auch annähernd das abschattierte Tiefenbild der median durchschnittenen Organe herstellen kann. In gleicher Weise lassen sich auch Lateralansichten, Frontalschnitte, Frontalaufsichten usw. aus einer Querschnittserie gewinnen.

Nach einer solchen zeichnerischen »Durcharbeitung« einer Serie in den verschiedensten Schnitten und Aufsichten ging His daran, das betreffende Objekt (oder bestimmte Organe desselben), unter stetiger Berücksichtigung der den Schnittbildern entnommenen Maße, »frei« zu modellieren — ein Verfahren, das trotz ausgezeichneter Resultate in den Händen seines Autors wegen der hohen Anforderungen, die es bei mannigfachen subjektiven Fehlerquellen an das künstlerisch-technische Geschick des Arbeiters stellt, kaum Nachahmung gefunden hat.

2. Die **„graphische Isolierung“ nach Kastschenko** (86, 87, 88; siehe in Zeitschr. f. wiss. Mikr. 87, p. 355 auch die Vorläufer). Vorausgesetzt ist, daß das Objekt im Paraffin von ihm dicht anliegenden, sich winklig schneidenden und zur Schnittebene senkrechten **„Definierflächen“** umgeben ist, oder daß sich neben demselben eine »Richtfläche mit Richtleisten« (siehe § 502) befindet.

Die vergrößerten Schnittbilder der »graphisch zu isolierenden Organe« werden der Reihenfolge nach übereinander auf Karton gezeichnet, wobei aber dafür gesorgt wird, daß sich jedesmal die Durchschnittslinien der Definierflächen, resp. die gezackten Richtlinien, genau decken. So entsteht ein richtig orientiertes System um- und nebeneinander gelagerter Umrißlinien, nach denen sich die **Aufsicht** auf das Organ **senkrecht zur Schnittebene** leicht entsprechend schattiert herstellen läßt.

501. Für **plastische Rekonstruktionen** wird jetzt allgemein die **Plattenmodelliermethode** (Born) benutzt: — Ihr Prinzip ist folgendes:

Aus jedem Schnitt einer gleichmäßigen Serie werden die Teile, die man plastisch rekonstruieren will, in einer bestimmten Vergrößerung auf Platten aufgezeichnet, die ebensovielmal dicker als die Schnitte der Serie sind, wie die Flächenvergrößerung beträgt. Die interessierenden Teile werden dann aus den Platten herausgeschnitten und die Ausschnitte der Reihenfolge nach aufeinander geklebt. Geschieht dies in der richtigen Weise — ohne seitliche Verschiebungen —, so muß, nachdem die Stufen zwischen den Rändern der Platten geglättet sind, ein in allen drei Dimensionen richtig vergrößertes plastisches Abbild des durch die Schnittserie zerlegten Objekts herauskommen.

Nehmen wir zur Erläuterung ein ähnliches Beispiel wie oben: — Aus der gleichmäßig 20 μ dicken Querschnittserie durch einen kleinen menschlichen Embryo sei der Darmkanal 50mal vergrößert plastisch zu rekonstruieren. — Man hat dazu die Durchschnittsfigur des Darmkanals aus jedem Schnitte in 50facher Vergrößerung auf 50 × 20 μ, d. h. 1 mm dicke Platten, aufzuzeichnen. Die richtig übereinander geklebten Ausschnitte der Durchschnittszeichnungen des Darmes aus diesen Platten ergeben die 50mal vergrößerte, plastische Rekonstruktion des Organs.

In betreff der Einzelheiten des Verfahrens sei hier noch folgendes bemerkt — für Genaueres muß auf die angeführte Literatur verwiesen werden:

502. Richtfläche mit Richtleisten. Wenn man nicht nach einer fertigen Serie modellieren muß, versäume man nicht, an dem Paraffinblock dicht neben dem Objekt eine zur Schnittebene senkrechte Richtebene mit ebenso senkrechten Richtleisten anzubringen; auf den Schnitten resultiert daraus eine neben jedem Schnitte liegende, **gezackte Richtlinie** (über Zweck und Bedeutung derselben siehe unten § 508). Das neue, hier wiedergegebene

Verfahren von Born und Peter (98, 99), das jetzt schon vielfach erprobt ist, schließt sich direkt an die gewöhnliche Art, nach der man Paraffinblöcke gießt, an. Über andere, ältere, in einzelnen Fällen sogar unentbehrliche Verfahren zur Herstellung von Richtlinien siehe die angeführte Literatur.

Man stellt sich eine **rechteckige Kammer** her, indem man zwei rechte Winkel (Neapler Rähmchen) auf einer plangeschliffenen, mit drei Füßchen versehenen Grundplatte so zusammenfügt, daß ihre unteren Ränder genau mit den (2 cm langen) Seiten eines auf der Grundplatte eingeritzten Quadrates zusammenfallen. Dieses quadratische Feld der Grundplatte, das den Boden der Kammer bildet, trägt in einem mittleren Streifen ein System von untereinander und zu zwei Seiten des Quadrates parallelen, dicht nebeneinander liegenden Ritzen. Am besten ist die von Zeiß-Jena aus Glas hergestellte Richtplatte nach Born-Peter (Preis 40 M.). Aus Metall kann dieselbe leicht jeder Mechaniker anfertigen (event. Kleinert, Breslau, Breitestraße). In diese rechteckige Kammer, deren Grundplatte und Seitenwände vorher sehr sorgfältig mit Alkohol und dann mit Chloroform geputzt wurden (ev. zuletzt noch mit einer Spur Alkohol-Glyzerin abgerieben), und die im ganzen auf einige 50° C erwärmt war, wird auf etwa 70° C erhitztes Paraffin eingegossen, — das imbibierte Objekt eingebracht und (für eine Querschnittserie) mit seiner Längsachse senkrecht zu der dem Arbeiter zugewandten Seitenfläche (der Fußfläche) orientiert. Bei gläserner Grundplatte benutzt man dazu bei durchfallendem Lichte sichtbare, sich senkrecht überkreuzende, geschwärzte Linien, die auf der Unterseite des quadratischen Feldes eingraviert sind. Die Kammer wird außen mit kaltem Leitungswasser umgeben. Die Oberfläche des Paraffins hält man mit heißem Spatel 10—15 Minuten lang flüssig, während es von unten her langsam erstarrt. Man verhütet dadurch, daß das schrumpfende Paraffin die untere Fläche des Blockes mit den Richtlinien ein zieht. Nach längerem Liegen in kaltem Wasser lösen sich Winkel und Grundplatte glatt ab; — man erhält einen rechteckigen (parallelepipedischen) Paraffinblock. Die Fußfläche desselben wird auf die mit definitiv festgestelltem Quermesser auf dem Paraffintische des Mikrotoms angeschnittene Fläche aufgestellt und mit überhitztem Paraffin an dieser festgeschmolzen; dann stehen

die Längsachse des Objekts, die von der Grundplatte abgelöste, mit parallelen Leisten versehene Fläche des Blockes (die Richtfläche) sowie diese Leisten selbst (die Richtleisten) senkrecht zur Schnittebene. Die Leistenfläche erhält einen dünnen Anstrich von schwarzem Lack. Peter (06) empfiehlt dazu als besten Überzug für Paraffin- wie Zelloidinblöcke einen Schuhlack englischer Herkunft »Nubian Waterproof Blacking« (bei Grübler erhältlich). Der Überzug muß ganz dünn sein. Nach Trocknen desselben schneidet man um das Objekt und von der Leistenfläche alles, was nicht notwendig ist, vorsichtig ab; der Rest wird auf einen Augenblick in Paraffin von 75° C getaucht und nach dem Erkalten dieses Eintauchen so oft wiederholt, bis die Leistenfläche (Richtfläche mit Richtleisten) einen etwa einen Millimeter dicken Paraffinüberzug trägt.

Zur Zelloidineinbettung befestigt Peter (06) die Winkel auf der Grundplatte, indem er in die Spalten einen Tropfen Schellackfixativ einfließen läßt, das die Flächen rasch aneinander kittet. Das Eindicken des Zelloidins nehme man recht langsam vor. Beim Einsetzen des Apparates in 80%igen Alkohol löst sich das Fixativ auf, Winkel und Grundplatte fallen ab. »Man erhält einen Zelloidinwürfel mit Richtfläche und Richtleisten, der ganz dem Paraffinwürfel gleicht.«

Wenn nun das Quermesser beim Schneiden der Serie nicht mehr verrückt wird, wird das Objekt in Schnitte zerlegt, die senkrecht zur Längsachse desselben stehen und welche **gleichzeitig die geschwärzte Richtfläche mit den Richtleisten senkrecht treffen.** Dicht neben jedem Schnitte liegt dann eine feine, gezackte, schwarze »Richtlinie« (mit vom Schnitte abgewendeten Zacken!). — Würde man sämtliche Schnitte der Reihenfolge nach so aufeinander legen können, daß alle gezackten Richtlinien sich wieder zu einer senkrechten Richtfläche mit senkrechten Richtleisten zusammenfügten, so würden auch alle Organdurchschnitte richtig, d. h. ohne seitliche Verschiebung, aufeinanderfallen. — In der hier angedeuteten Weise — nur daß nicht die Schnitte, sondern deren vergrößerte Bilder aufeinandergelegt werden — werden die Richtlinien bei Flächenrekonstruktionen (§ 500) sowie bei der Plattenmodelliermethode benutzt.

503. Die Schnittserie. Die sorgfältig hergestellten Serienschnitte klebe man nach einer der in § 272—282 angeführten Methoden auf, wobei man auf völlige Streckung der Schnitte und gleichmäßige Ordnung derselben achte. Sehr empfehlenswert ist die in § 282, 3 angegebene Methode von Apathy: Nach dem Trocknen taucht man Paraffinpräparate nach Peter (06) zuerst in abs. Alkohol, da sich sonst die Lacklinie im Xylol kräuselt. Dann folgt Xylol, und wenn die Präparate nicht im Stück durchgefärbt sind, Nachfärbung. Ferner § 1442.

504. Das Zeichnen. Man zeichne mit Benutzung des Oberhäuserschen Prismas, des Abbeschen Spiegels oder am besten unter Zuhilfenahme eines Projektionsapparates, da dieser selbst bei starken Vergrößerungen (100—150mal), die immer zu bevorzugen sind, ein großes und ebenes Gesichtsfeld gewährt. Walzt man die Platten selbst aus, so zeichne man mit Kopierstiften (um Kopien abnehmen zu können) auf ein möglichst ungeleimtes Druckpapier (Zeitungspapier); auf fertige Platten wird mit einem weichen Bleistift gezeichnet. Man mache es sich zur Regel, eher etwas zu viel als zu wenig zu zeichnen.

505. Die Platten wurden anfänglich aus Wachs gegossen. Jetzt werden meist gewalzte, planparallele Wachspapierplatten (nach Strasser-Borns Vorschriften) benutzt. Bei diesen ist eine Wachsschicht zwischen zwei Papierblättern eingeschlossen; das eine Blatt dient zur Aufnahme der Zeichnung (möglichst ungeleimtes Druckpapier, siehe den vorigen Paragraphen), das andere Blatt ist nur eine Decklage von Florpapier. Die Papierüberzüge verleihen den Platten und damit dem ganzen Modell einen hohen Grad von Elastizität. Solche Wachspapierplatten liefert Dr. Grübler-Leipzig in den gebräuchlichsten Dicken. Da man aber von jeder Platte nur einen kleinen Ausschnitt braucht, kommt die Benutzung der käuflichen Platten ziemlich teuer zu stehen; es ist daher dringend anzuraten, die Wachspapierplatten nach den bei Peter (08) gegebenen Vorschriften selbst herzustellen.

506. Peter benutzt reines gelbes Bienenwachs. Da dieses sehr teuer ist, benutze ich folgende Mischung: Gelbes Bienenwachs 1 Gew.-Teil, Paraffin (Schmelzp. 40—45°) 1 Gew.-Teil, Paraffin (Schmelzp. 50—52°) 1 Gew.-Teil. Fedorow empfiehlt Zeresin (Ceresin. flav. U. O.) oder Mischung desselben mit Wachs. Ebenso Kappers (15) Zeresin (Schmelzp. 55—58°) 2 Teile; Wachs 1 Teil.

507. Neuere vollkommenere Instrumente zum Plattenwalzen sind z. B. der von Berner (10) beschriebene Jungsche Apparat, sowie die von L. Neumayer (11) beschriebene elektrisch heizbare Walze nebst Walzfläche mit verstellbaren Gleitschienen.

508. Das Ausschneiden und das Aufeinanderpassen der Ausschnitte. Zum Ausschneiden werden am besten ganz kurze, schmale und spitze Messerchen (abgeschliffene Skalpelle) benutzt. Sehr zweckmäßig sind dazu die Beschneidefedern, wie sie zum Beschneiden von Photographien gebräuchlich sind. Man beginne mit den Hohlräumen und lasse zwischen allen, gar nicht oder nur schmal zusammenhängenden Teilen provisorische Verbindungsstreifen (»Brücken«) stehen, die später — wenn die vorher getrennten Teile sich beim Aufeinanderpassen vereinigt haben — entfernt werden; bleiben Modellstücke dauernd isoliert, so werden die »Brücken« zuletzt durch Drahtstifte u. dgl. ersetzt. An der »Richtlinie« bleibt ein fingerbreiter Wachsstreifen stehen, aus dem die Richtzacken herausstehen; natürlich wird dieselbe auch mit den Schnitten durch »Brücken« verbunden.

Muß man ohne »Richtlinien« modellieren, so braucht man doch keine allzugroßen Fehler zu befürchten: »Die Profilkontur, durchgehende gestreckte Gebilde, wie Chorda, Blutgefäße usw., schützen meist vor falschen seitlichen Verschiebungen bei dem Aufeinanderpassen der Ausschnitte; außerdem besitzen die Schnitte durch ein einigermaßen kompliziertes Gebilde so viele Merkmale zweiter und dritter Ordnung, die immer nur eine bestimmte Art der Aufeinanderpassung möglich oder wahrscheinlich machen, daß ein Abirren nicht leicht vorkommen kann.«

Besser und sicherer aber ist es, eine »Richtlinie« neben jedem Schnitte zu haben. Man braucht dann nur die die Richtlinien tragenden Wachsstreifen so aufeinander zu passen, daß die Richtlinien mit ihren Zacken senkrecht übereinander fallen, damit alle Ausschnitte des Objekts richtig — ohne seitliche Verschiebungen — aufeinander zu liegen kommen (siehe den Schluß von § 502). Weitere Bemerkungen bei Lebedkin (14).

509. Die Vollendung des Modells. Man lege zuerst etwa 5 Ausschnitte richtig übereinander und befestige dieselben provisorisch, indem man ihre breiteren Teile mit einem stark erhitzten, schmalen Modellierspatel durchsticht; dann glättet man die Stufen und verschmilzt die Ränder mit dem heißen, breiten Spatel. Darauf werden wieder 5—6 Ausschnitte aufgelegt usw. Man glaube nicht, wie

dies manche tun, daß ein Modellstück mit ungeglätteten Stufen »naturwahrer« sei als ein ausgeglättetes.

Im Interesse des Einblicks in Hohlräume usf. wird man das Modell häufig nicht in einem zusammenhängenden Stücke fertigstellen, sondern dasselbe lieber nach provisorischer Vereinigung und oberflächlicher Glättung in bestimmten Ebenen wieder in getrennte Stücke zerlegen. Schaper (04) benutzt zum Zerschneiden großer Modelle einen durch elektrischen Strom glühend gemachten Draht. In anderen Fällen schneidet man »Fenster« ein, setzt »Stütz- und Verbindungsdrähte« an und was dgl. mehr ist. Über die rechtzeitige Entfernung der Brücken siehe oben.

Zuletzt glättet man mit dem heißen Spatel, mit einem breiten, in Terpentin getauchten Pinsel, mit der Fingerbeere usf., so weit wie möglich; ein glattes Modell, an dem die zufälligen Unebenheiten entfernt sind, läßt die charakteristischen Formen viel besser erkennen als ein rauhes.

L. Neumayer (07) trägt auf die Oberfläche des zuerst mit Alkohol abgewaschenen und dann mit einer dünnen Schellacklösung bestrichenen Wachsmodells zur Konsolidierung erwärmten Knochenleim auf und bemalt es dann mit Ölfarben. Emaillack (Blundells Petrifying Liquid, Spence and Co., Limited in Hull) an Stelle des Leims mehrmals aufgetragen macht wasserbeständig.

Weitere Angaben siehe bei Peter (06) und Röthig (04).

509a. Statt Wachsplatten wurden verschiedentlich auch andere Materialien wie Pappe, Blech usw. benutzt. Am besten unter diesen Methoden ist das Verfahren von Triepel (18), der die Zeichnung auf dünne Elfenbeinkartons (0,4 mm) aufklebt und dann ausschneidet. Um die entsprechende Schnittdicke zu bekommen, klebt man dann noch kleine Pappstückchen dazwischen. Zuletzt gießt man die Spalten mit Wachs aus. Die Dicke der Materialien ergibt sich aus der Formel:

Zeichenpapier × Karton + Pappscheibchen = Vergrößerung × Schnittdicke. Näheres im Original.

MARINE BIOLOGICAL LABORATORY WOODS HOLE LIBRARY MASS.

Spezieller Teil.

13. Kapitel. Die Untersuchung der Zelle und ihrer Bestandteile.

A. Untersuchung des Zellkerns.

510. Material. Als Untersuchungsobjekte eignen sich wegen ihrer bedeutenden Zellgröße besonders Amphibien, namentlich Larven von Fröschen und Tritonen. Noch günstiger, aber schwieriger zu bekommen sind junge Entwicklungsstadien von Salamandra mac. und atra, sowie von Axolotl. Von höheren Wirbeltieren bieten u. a. Meerschweinchen vorteilhafte Verhältnisse. Auch zahlreiche Wirbellose, z. B. Eier des Spulwurms, Spinndrüsenzellen von Raupen, Speicheldrüsenzellen von Chironomuslarven usw. sind günstige Objekte.

511. Für **Beobachtungen** und Versuche **an lebenden Zellkernen** empfiehlt Groß (16) Zellen des Schwanzflossenepithels von Salamander- bzw. Tritonenlarven, der Speicheldrüsen von Limnaea stagnalis, der Malpighischen Gefäße von Corethra und ferner Eizellen von Unio und Anodonta. Sehr schöne zytologische Untersuchungen lassen sich auch an den lebenden Zellen von Gewebekulturen (vgl. Kap. 3) anstellen.

512. Reaktionen am frischen Präparat. Groß (16) unterscheidet im lebenden Zellkern zwischen Oxychromiolen (nicht immer vorhanden), Chromatinkörnchen und Netzknoten. Die Netzknoten werden durch konz. HCl, 5%iges NH_3 und 10%ige Na_2CO_3 zum Teil oder vollständig gelöst, während die Chromatinkörnchen weniger und die Oxychromiden nicht (außer von HCl) angegriffen werden. Die Kernmembran wird in konz. HCl etwa in 1 Stunde, in 5%iger NH_3 nach ca. 30 Minuten, in 10%iger Na_2CO_3 in etwa drei Stunden gelöst. Die Nukleolen werden durch konz. HCl gelöst; in 5%iger NH_3 tritt zuerst Quellung und dann Lösung ein. In 10%igem Na_2CO_3 tritt ebenfalls Quellung und Lösung ein, wobei vom chromatischen Teil noch ein Rest zurückbleibt, ebenso in 10%igem NaCl. Diese Reaktionen treten nur bei Verwendung frischen, nicht konservierten Materials ein.

513. Sehr instruktive Präparate erhält man, wenn man etwas frisches Gewebe in einem Tropfen einer Lösung von **Methylgrün** in 0,75%iger **Essigsäure** zerzupft. Dann läßt man 15 Minuten Osmiumdämpfe einwirken und untersucht in Glyzerin oder in dem Gemisch von **Ripart und Petit** (Eisessig 1 ccm; Kupferazetat 0,3 g; Kupferchlorid 0,3 g; Kampfer- oder Thymolwasser 75 ccm; dest. Wasser 75 ccm).

514. Verhalten der Kerne gegenüber **Verdauungsflüssigkeiten.** In leichtangesäuerter Pepsinlösung wird das Nuklein der Kerne nicht angegriffen. Durch Trypsin werden die Kerne dagegen gelöst. Zum spezif. Nachweis von Nukleinsäureverbindungen läßt van Herwerden (13, 14) auf alkoholfixierte Präparate 24—48 Stunden bei 37° C Nuklease einwirken, wodurch in zahlreichen Fällen die nukleinsauren Verbindungen in Lösung gehen. Die Nuklease gewinnt man durch Sättigung von Milzpreßsaft mit Ammoniumsulfat; die Fällung wird getrocknet und vor Gebrauch zur Entfernung des Ammonsulfats 24 Stunden dialysiert. Der Schlauchinhalt enthält das wirksame Enzym.

515. Zur **Fixierung** von Mitosen usw. (frisches Material!) eignen sich insbesonders für Anfänger, für Übersichtsbilder und Kurszwecke hauptsächlich rasch eindringende Lösungen, z. B. Sublimat-Eisessig (§ 183), Subtrie (§ 182), Sublimat-Trichloressigsäure-Formol (§ 184), oder die Flüssigkeiten von Bouin (§ 163), Carnoy (§ 118). Hierauf Schnitt- oder Stückfärbung mit einem Alaunhämatoxylin (§ 344, 351 oder 353) oder Karmin (§ 334) oder Schnittfärbung mit Safranin oder anderen basischen Anilinfarbstoffen.

516. Für Untersuchungen der **Chromophilie** des Kernes (Basichromatin-Oxychromatin) ist besonders Fixierung in abs. Alkohol von Bedeutung und Färbung mit Methylgrün-Pyronin und M.-P.-Orange [vgl. § 434, 435 und Pappenheim (08)].

517. Nach Hammer (91) laufen die Mitosen beim Menschen nach dem Tode nicht ab, sondern gehen durch Chromatolyse zugrunde. Die achromatische Spindel erhält sich lange. Ähnlich Schenk (90).

518. Für genauere Untersuchungen des Kernes (wie auch anderer Zellstrukturen) ist es nicht nur unerläßlich, daß das Material frisch fixiert wird, sondern dasselbe muß auch von völlig gesunden, unter normalen Lebensbedingungen stehenden (frisch gefangenen) Tieren stammen. (Über den Einfluß ungünstiger äußerer Lebensbedingungen auf die Kernstruktur der Eizellen vgl. Stieve 13, 18.)

519. Als feinere Untersuchungsmethoden seien besonders folgende hervorgehoben:

a) Fixierung mit Flemmingscher Lösung § 125. Schnittfärbung mit Safranin § 392ff., Safranin-Lichtgrün § 523, nach M. Heidenhain § 358f., nach § 528, u. a.

b) Fixierung mit Platinchlorid nach § 170 oder 171, Färben mit Delafieldschem oder Ehrlichschem Alaunhämatoxylin (§ 351 oder 353). Untersuchen ev. schon in Wasser oder Methylalkohol.

c) Fixierung nach Hermann (§ 158ff.). Färbung der Schnitte mit Safranin (§ 392ff.), Safranin-Gramscher Farbe (§ 1254), nach M. Heidenhain (§ 358f.). Auch ohne Färbung sind, insbesondere nach Holzessigbehandlung (§ 160), viele Strukturen zu sehen.

Mit diesen drei Methoden fixiere man nur ganz kleine Organstückchen (1—3 cmm). Größere und schwer durchdringbare Objekte fixiere man besser wie folgt:

d) Fixierung mit Sublimat-Eisessig, § 183, oder nach Bouin § 163, Färbung mit Ehrlichschem Alaunhämatoxylin (§ 353), Methylgrün-Pyronin (§ 434), nach M. Heidenhain (§ 358f.), nach Obst (§ 521), Triacid (§ 436) u. a.

520. Die osmiumsäurehaltigen, nur schwach angesäuerten Fixierungsflüssigkeiten scheinen Kern- und Zellstrukturen am ebensähnlichsten zu erhalten (vgl. Lewitzky, Lewis 15).

521. Obst schließt an Sublimatfixation eine 16—17-stündige Stückfärbung mit Boraxkarmin. Sodann Schnittfärbung mit stark verdünnter wässeriger Lichtgrünfärbung. Chromatin rot, Nukleolen grün.

522. Nach Fixierung in Flemmingscher oder Hermannscher Lösung färbt Methylgrün-Pyronin oft das Chromatin rot und die Nukleolen grün.

523. Nach Kernfärbung mit **Safranin** (§ 393) empfiehlt sich als Kontrastfärbung oft **Lichtgrün** (Benda). Man differenziert dazu die 24 Stunden in Safranin gefärbten Schnitte nach Abspülen in Wasser in einer 1%igen Lösung von Lichtgrün in 96%igem Alkohol. Dann abs. Alkohol, Xylol, Balsam.

524. Besonders wertvoll für das Studium des Chromatins ist die progressive Färbung mit stark verdünntem Delafieldschen Hämatoxylin (§ 351), ev. Differenzieren in stark verdünnter Alaunlösung (s. § 347), ferner mit Methylgrün.

525. Ob die Färbungen mit Karmin und Hämatoxylin mit denjenigen basischer Anilinfarbstoffe vollständig übereinstimmen, ist noch nicht sichergestellt. Karmin leistet wegen seiner relativ weniger intensiven Färbung bei Untersuchungen allerfeinster basichromatischer Strukturen weniger

wie intensiv färbende dunkle Farben. Doch läßt sich jetzt dieser Nachteil mit Hilfe der Quarzquecksilberlampe (vgl. § 25), bei der bei entsprechendem Filter rotgefärbte Strukturen schwarz hervortreten, ausschalten.

526. Zur **Unterscheidung der gewöhnlichen und der sauren Kerne** färbt Unna (14) wie folgt: 1. Färbung der Alkohol-Zelloidinschnitte 5 Minuten in Böhmerscher Alaunhämateinlösung (vgl. § 354). [Ich ziehe das Hämalaun von P. Mayer (§ 344) oder die Ehrlichsche Lösung (§ 353) vor.] 2. Auswaschen in Leitungswasser 10 Minuten, bis alle Kerne blau. 3. In einer 1%igen Safraninlösung (Marke O, Grübler) werden in 20 Minuten alle Kerne rot umgefärbt. 4. Abspülen in Leitungswasser. 5. Differenzieren in Tannin 25 g; Pikrinsäure 0,1; Wasser 100 cc 2—5 Minuten je nach Schnittdicke. 6. Auswaschen in Wasser 10 Minuten usw. Resultat: Gewöhnliche Kerne blauviolett, Mitosen und Keratohyalin dunkelblauviolett; Kernkörperchen und saure Kerne gelbrot-braunrot; Fibrin, glatte Muskeln, Keratin scharlachrot.

B. Centrosom und Sphäre, Protoplasma.

527. Als **Material** für die Untersuchung der achromatischen Zellbestandteile eignen sich besonders Eier von Ascar. megaloc. und Hoden von Schmetterlingsraupen (besonders Lymantria-Arten). Ferner, jedoch schwieriger zu bekommen: Eier mariner Strudelwürmer (Thysanazoon), von Rhynchelmis, von Piscicola (letztere in Fischzuchtanstalten erhältlich).

528. Zur Darstellung von Centrosom, Spindelfäden, Lininfäden und Polstrahlen eignet sich besonders die von Flemming (91 und 95) empfohlene Färbung mit **Safranin-Gentianaviolett-Orange.** Leider ist die Methode etwas launisch, was zu zahlreichen Modifikationen Veranlassung gab. Die Hauptursache des Fehlschlagens ist ungeeignetes Safranin (vgl. § 392).

Am besten erwies sich mir die Modifikation von Winiwarter u. Saimont (08):

Fixierung nach Flemming (§ 125). Wichtig ist, nach der Fixierung 24 Stunden in fließendem Wasser gut auszuwaschen und bald in Paraffin einzubetten. Werden die Schnitte erst nach mehreren Jahren angefertigt, so müssen sie zur Wiederherstellung ihrer Färbbarkeit nach dem Aufkleben auf 24 Stunden in Flemmingsche Lösung eingelegt werden. Ebenso werden auch aufgeklebte Paraffinschnitte von anders fixiertem Material dadurch brauchbar, daß man sie 24 Stunden in Flemmingsche Flüssigkeit stellt und 20 Minuten in fließendem Wasser auswäscht.

Färbung: 1. Xylol, abs. Alkohol 95%ig und 65%iger Alkohol. 2. 24stündige Färbung in Safranin, nach § 393, mehrmaliges Waschen in dest. Wasser. 3. Färbung 24 Stunden in 1%iger wässeriger Gentianaviolettlösung. Mehrmaliges Waschen in dest. Wasser. 4. Eintauchen in eine wässerige Lösung von Orange *G*, etwa 1 Minute; ihre Konzentration hängt von dem zu färbenden Objekt ab und muß empirisch durch Kontrolle unter dem Mikroskop festgestellt werden. Embryonales Material erfordert 3—4mal stärkere Konzentration als anderes. 5. Eintauchen in angesäuerten Alkohol (6—8 Tropfen einer Mischung von gleichen Teilen abs. Alkohols und reiner Salzsäure auf 100 ccm abs. Alkohol). Beim ersten Auftreten von violetten Wolken (nach 2—3 Sekunden!) werden die Schnitte sofort entfernt, und 6. in reinem Alkohol ordentlich ausgewaschen, um Säure und Farbüberschuß zu entfernen. 7. Langsame Differenzierung unter dem Mikroskop in einer Mischung von Nelkenöl und wenig abs. Alkohol, bis die Schnitte eine schöne blaue Farbe in kernreichen, eine intensiv gelbe Farbe in kernarmen Teilen aufweisen. 8. Reines Nelkenöl zur Entfernung des Alkohols. 9. Aufstellen der Objektträger, um das Öl ablaufen zu lassen. 10. Auswaschen in Xylol; Kanadabalsam.

Statt Nelkenöl-Alkohol und reines Nelkenöl nehme ich Terpineol-Alkohol und Terpineol.

Resultat: Chromatin der ruhenden Kerne dunkelblau, Nukleolus hellrot, Chromosomen bei Kernteilung rot; Chromatin degenerierender Kerne, in Ruhe oder in Teilung: alle Abstufungen zwischen schmutzigem Braunrot und Violett; im Ovarium sind die Kerne der erwachsenen interstitiellen Zellen rot, ebenso die Blutkörperchen, was, nebenbei gesagt, das beste Zeichen eines guten Safranins ist. Protoplasma hellgelb, in degenerierenden Zellen braun; achromatische Figuren und Zellmembranen deutlich. Das Bindegewebe färbt sich stärker in gelb oder braun; Epithel und Bindegewebestrukturen aufs schärfste ausgeprägt. Fettropfen bei Osmiumfixierung schwarz. Bei richtiger Übung gibt die Methode ausgezeichnete Resultate.

529. Weitere Modifikationen von Reinke (94) und Bonney (06 und 08) s. S. 114 und 115 der 7. Aufl. des Taschenbuches.

530. Sehr gut und in verhältnismäßig einfacher Weise gelingt die Färbung von Centrosomen, wie auch anderer Zellstrukturen mittels der Eisenhämatoxylinmethode von M. Heidenhain (§ 358f.), ev. mit Gegenfärbung durch Orange oder Lichtgrün.

531. Zur Darstellung des **intergranulären Netzwerkes** in der Zelle legt Altmann (92) frische Gewebestückchen für 24 Stunden in molybdänsauren Ammoniak 2,5 g; Chromsäure

0,25—1,0 g; dest. Wasser 100 ccm. Nach 24 Stunden überträgt man direkt in Alkohol usw. Färbung wie gewöhnlich, Hämatoxylin, Gentiana od. dgl.

532. Als Färbung für **basische Eiweiße** empfehlen Krugenberg und Thielemann (18) eine Mischung von 6 Tropfen einer 1%igen Wasserblaulösung + 15 Tropfen einer 0,5%igen Eosinlösung (w. g.) + 15 Tropfen einer 1%igen Phloxinlösung. Man färbt 2—10 Minuten, spült in Wasser kurz ab, entwässert kurz in abs. Alkohol und bringt durch Öl in Balsam. (Farbgemisch bei Grübler unter der Bezeichnung WEP erhältlich.) Fixierung am besten in Alkohol (s. ferner § 1320).

C. Darstellung der Plastosomen (Mitochondrien, Chondriosomen).

533. Zur **Lebendbeobachtung** von Plastosomen eignen sich u. a. Gewebekulturen. Terni empfiehlt die Geschlechtszellen von Geotriton fuscus. Sehr schön lassen sie sich in den Zellen dünner Knorpelplättchen von Amphibienlarven, ferner in den Achselschuppen junger Elodeablättchen beobachten. Vitalfärbung gelingt am besten mit Janusgrün (ev. auch mit Dahlia oder Methylviolett) vgl. § 463.

1. Fixierungsmethoden.

534. Vorbedingung ist Verwendung lebensfrischen Materials und Fixierung möglichst kleiner Organstückchen (insbesondere bei den osmiumhaltigen Flüssigkeiten). An erster Stelle stehen die Methoden § 535—540.

535. Methode von **Benda** (01 und 03): 1. Fixieren in 1%iger wässeriger Chromsäure 15 ccm; 2%ige Osmiumsäure 4 ccm; Eisessig 2—3 Tropfen, 8 Tage. 2. Waschen ca. 1/2 Stunde in dest. Wasser, dann übertragen in Acetum pyrolignosum rectificat. + 1%ige wässerige Chromsäure āā. Nach 24 Stunden Abspülen mit dest. Wasser, und 3. in 2%ige wässerige Kaliumbichromatlösung. Nach 1—3 Tagen (Champy) 4. 24stündiges Auswaschen, Entwässern in steigendem Alkohol, Paraffineinbettung. Färbung nach Benda s. § 550, Heidenhain oder Kull § 556.

536. **Meves** (08) empfiehlt für zartes embryonales Material (Hühnerkeimscheibe) 0,5%ige Chromsäure mit 1%igem NaCl-Zusatz: 15 ccm, 2%ige Osmiumsäure: 4 ccm, Eisessig: 3 Tropfen. Dauer 1—8 Tage.

537. Sehr gut fixiert ferner die **Altmannsche** Flüssigkeit: 2%ige Osmiumsäure + 5%ige wässerige Kaliumbichromatlösung zu gleichen Teilen. Dauer: 24 Stunden, dann Auswaschen in fließendem Wasser, Alkohol usw.

538. Kopsch fixiert in 3½%igem Kaliumbichromat 80 ccm + Formol 20 ccm. Dann 3—4 Tage chromieren in 3,5%igem Kaliumbichromat, dann wässern usw.

539. Ganz ähnlich ist die gebräuchlichste Methode von **Regaud** (10): Fixierung in Kaliumbichromat 3%ig 80 ccm; Formol 20 ccm; Dauer 4 Tage, jeden Tag frische Flüssigkeit; dann Nachchromierung eine Woche in 3%igem Kaliumbichromat. Hierauf 24 Stunden Auswaschen in fließendem Wasser usw. (An gleicher Stelle noch weitere Methoden von Regaud.)

540. Champy fixiert in Kaliumbichromat 3%ig 7 ccm + Chromsäure 1%ig 7 ccm + Osmiumsäure 2%ig 4 ccm 24 Stunden; dann Postchromierung nach Benda oder nach Regaud. Nach Kull (13) fixiert diese Methode am besten.

541. Dubreuil empfiehlt Sublimat 5 g; Kaliumbichromat 3 g; Wasser 90 ccm + Formol 10 ccm. Fixierung 3—4 Tage, dann 10—15 Tage in 3%igem Kaliumbichromat.

542. Kolster fixiert in Kaliumbichromatlösung 5%ig 40,0; Chromalaunlösung 2%ig 40,0; Formol 20,0. Dauer 24 Stunden; dann für 3 Tage in obige Lösung ohne Formolzusatz. Dann 24stündiges Wässern usw.

543. Kiyono (14) fixiert in Formol oder nach Helly (24 Stunden), wäscht einige Stunden aus und chromiert 2 Tage bei 37° C in Kaliumbichromat 5 g; Chromalaun 2 g; Wasser 100 ccm. 24 Stunden wässern usw. Nach dieser Fixierung, die auch an etwas größeren Stückchen gelingen soll, ist auch die Altmannsche Färbung möglich.

544. Bensley (Cowdry 13) fixiert in Kaliumbichromatlösung 2,5%ig 16 ccm; Osmiumsäurelösung 2%ig 4 ccm; Essigsäure 1—2 Tropfen. Dauer 2—16 Stunden; Auswaschen 1 Stunde in dest. Wasser, dann 50-, 70-, 97%iger und abs. Alkohol je 24 Stunden und durch Bergamottöl in Paraffin.

545. Ferner s. Fixierung nach **Schultze** § 371.

546. Fixierung in unverdünntem (40%igem) Formol oder Formol 1 : Wasser 1—4 Teile erhält die Plastosomen nach Bang und Sjövall (15, ebenso Romeis 12) auch ohne nachfolgende Chromierung in färbbarem Zustand. Nach der Fixierung übertragen in 96%igen Alkohol. Hier auch interessante Angaben über die Einwirkung osmotischer Einflüsse auf die Form der Plastosomen. Bei Isotonie grazile fadenförmige Plastosomen, bei Hypertonie eckige Schollen, bei Hypotonie Quellung und Umwandlung in Tropfen.

547. Schon einmaliges Gefrieren mit CO_2 verändert die Plastosomen der Leberzellen (Doyon u. Policard 12). Ebenso wird durch Erwärmen die Form rasch verändert.

2. Bleichung.

548. Meistens gelingt die Färbung der Plastosomen nach Fixierung in osmiumsäurehaltigen Flüssigkeiten leichter und schärfer, wenn man die paraffinbefreiten Schnitte vor der Färbung nach der **Palschen** Methode **bleicht.**

Man bringt sie dazu aus dem Wasser für 4 Minuten in eine 0,25%ige Lösung von Kal. hypermangan., sodann gleichlang in 1%ige Oxalsäure + 1%ige Lösung von Kalium sulfurosum $\widehat{aa}$, worauf ausgewaschen wird (Rubaschkin 10, Meves 14). Cowdry (14) stellt 30 Sekunden in 1%ige Lösung von Kal. hypermangan. und sodann 30 Sekunden in 5%ige Oxalsäure.

3. Färbungsmethoden.

549. Am leichtesten und nach all den angeführten Fixierungen gelingt die Färbung nach § 551, 552, 555 und 556. Die Schnitte sollen nicht über 5 μ sein, besser dünner.

550. Die schönste, aber auch technisch schwierigste Methode ist die Färbung nach **Benda** (01 und 03, sowie Meves und Duesberg 08); die Präparate werden dazu am besten nach Bendas Angaben fixiert (§ 535).

Färbung: 1. Die möglichst dünnen aufgeklebten Schnitte werden entparaffiniert und durch Alkohol in dest. Wasser gebracht. Sodann kommen sie auf 24 Stunden in eine 4%ige Eisenalaunlösung (aus violetten Kristallen hergestellt).

2. Abspülen in dest. Wasser, dann für 24 Stunden in eine bernsteingelbe wässerige Lösung von sulfalizarinsaurem Natron (Kahlbaum), welche durch Verdünnen von 1 ccm einer gesättigten wässerigen Lösung mit 80—100 ccm dest. Wassers hergestellt wird. Die Schnitte müssen frei von der Farbe bespült sein.

3. Abspülen in dest. Wasser und Einlegen des Objektträgers (Präparat nach oben!) in eine Petrischale, welche mit der Bendaschen Kristallviolettlösung und dest. Wasser zu gleichen Teilen gefüllt ist. (Die Kristallviolettlösung ist eine 3%ige Lösung in 70%igem Alkohol, welche mit dem gleichen Volumen Anilinwasser verdünnt ist.)

4. Die Lösung wird erwärmt bis Dämpfe aufsteigen. Nach 3—5 Minuten wird

5. in dest. Wasser kurz abgespült und sodann in 30%iger Essigsäure differenziert (gewöhnlich 1—2 Minuten, unter Umständen auch kürzer oder länger).

6. Dann wird mindestens 5—10 Minuten in fließendem Wasser ausgewaschen, um jede Spur von Säure zu entfernen. Dabei tritt der durch die Alizarinfärbung bewirkte Farbton wieder rötlich hervor.

7. Abtrocknen mit glattem Fließpapier. Eintauchen in abs. Alkohol (Vorsicht!), Bergamottöl, Xylol, Balsam.

Der für die Färbung gefährlichste Augenblick ist das Entwässern in Alkohol, da hierin das Kristallviolett sehr leicht ausgezogen wird und die Färbung dann von 3 ab wiederholt werden muß. Ist man zu hastig gewesen, so daß auch andere Zellbestandteile noch mitgefärbt sind, so differenziert man nach Entfernung des Balsams durch Xylol in einer Mischung von Kreosot und Xylol nach. Statt Bergamottöl nehme ich Terpineol.

Bei richtig gelungener Färbung sind Kerne, Cytoplasma und Idiozom braunrot; die Zentralkörperchen rötlich violett. Einige Sekretgranula (z. B. esinophile Leukozytengranula) blauviolett. Die Plastosomen sind intensiv violett und sehr scharf abgegrenzt. (Auch manche Basalmembranen, Kernkörperchen usw. können, besonders wenn die Vorbehandlung nicht ganz exakt war, violett gefärbt sein; doch wird man diese Dinge bei einiger Kritik niemals mit Plastosomen verwechseln.)

551. Bei der Färbung nach **Meves** mit dem **Heidenhainschen** Eisenhämatoxylin verfährt man nach § 358. Resultat: Plastosomen schwarz.

552. Regaud (10) beizt die aufgeklebten, ev. mit Kollodium überstrichenen Schnitte 8—10 Tage bei Zimmertemperatur in 5—15%iger Eisenalaunlösung, wäscht einige Minuten in Wasser und färbt 24 Stunden mit Hämatoxylin (1 g H. gelöst in 10 ccm abs. Alkohol nach Lösung wird zugefügt: Glyzerin 10 ccm; dest. Wasser 80 ccm). Differenzieren in 5%iger Eisenalaunlösung. Resultat dieser guten empfehlenswerten Methode wie in § 551.

553. Cowdry (13) bekommt die Plastosomen nach folgender Methode scharf dunkelblau auf hellem Grunde (fix. nach Bensley § 544 oder Altmann § 537): 1. Die Schnitte kommen aus Wasser für 5 Minuten in gesättigte wässerige Lösung von Kupferazetat; 2. Auswaschen in mehrfach erneuertem dest. Wasser 1 Minute; 3. 0,5%ige wässerige Lösung von Hämatoxylin 1 Minute (wird hergestellt durch Verdünnung einer 10%igen, gut ausgereiften alkoholischen Stammlösung); 4. Abspülen in dest. Wasser; 5. 5%ige wässerige Lösung von neutralem Kaliumchromat 1 Minute. (Die Schnitte sollen hierin dunkelblau werden. Sind sie nur hellblau geworden,

so spüle man sie in dest. Wasser ab und beginne von vorne, bis kein Dunklerwerden der Farbe mehr eintritt.) 6. Auswaschen in dest. Wasser und Zurückbringen in das Kupferazetat für wenige Sekunden, um allen Farbstoff in Kupferlack umzuwandeln. 7. Auswaschen in dest. Wasser mehrere Minuten. 8. Differenzieren unter dem Mikroskop in Borax 4,0; rotes Blutlaugensalz (Ferrizyankali) 5,0; dest. Wasser 600,0. 9. 6—8stündiges Auswaschen in Brunnenwasser. 10. Entwässern, Toluol, Balsam.

554. Eine weitere von Cowdry veröffentlichte Methode Bensleys ist: Fixierung wie § 553. Einbettung in Paraffin usw. Bleichen der Schnitte nach § 548 (Cowdry). Färben: 1. 6 Minuten in Säurefuchsinlösung von Altmann bei 60°. 2. Abspülen in dest. Wasser. 3. Differenzieren in einer 1%igen wässerigen Methylgrün- oder Toluidinblaulösung. 4. Abspülen in 96%igem Alkohol, abs. Alkohol, Toluol, Balsam. (Ist die Säurefuchsinfärbung nicht gut, so empfiehlt es sich oft, die Schnitte vor der Färbung für 30 Sekunden in 2,5%iges Kaliumbichromat zu stellen und dann kurz in Wasser abzuspülen.) Resultat: Plastosomen rot, andere Zellbestandteile grün bis braun.

555. Färbung nach **Altmann** (nach Meves 11). Die höchstens 5 μ dicken, mit Eiweißwasser aufgeklebten Schnitte werden nach Entfernung des Paraffins in hoher Schicht mit Säurefuchsin-Anilinwasserlösung übergossen und über freier Flamme erwärmt, bis Dämpfe aufsteigen; sodann Abkühlen. Dies wiederholt man 1—2mal und läßt dann nach vollständigem Erkalten die überschüssige Farblösung ablaufen. (Statt dessen kann man die Schnitte auch für 30 Minuten in die auf 60° erwärmte, im Brutschrank stehende Farblösung bringen.) (Herstellung der Farblösung: in 100 ccm Anilinwasser (s. § 397) werden 20 g Säurefuchsin gelöst.) Zur Differenzierung dient Pikrinsäure am besten in den von Metzner empfohlenen Konzentrationen. I. 1 Vol. gesättigte Pikrinsäurelösung in abs. Alkohol und 4 Vol. 20%igen Alkohol, II. 1 Vol. gesättigte alkoholische Pikrinsäurelösung und 7 Vol. 20%igen Alkohol. Mit der ersten Lösung werden 2 Gläser gefüllt: eines, um die überschüssige Farblösung abzuspülen (ca. 15 Sekunden); in dem zweiten wird dann differenziert. Nach Abschluß der Differenzierung (ca. 1—3 Minuten), die man zuletzt in einem dritten, mit der Lösung II gefüllten Glas vornimmt, muß sehr gründlich in 95%igem Alkohol gewaschen werden. Dann abs. Alkohol, Xylol, Balsam.

Resultat: Die Plastosomen sind scharf rot gefärbt. Die Methode empfiehlt sich besonders nach Altmannscher

Fixierung (§ 537), gelingt aber auch bei Fixierung nach § 535, 538, 539, 540, 542 und 543.

556. Sehr gut ist die Modifikation der Altmannschen Methode von **Kull** (13). 1. Färben unter Erhitzen bis zur Dampfbildung mit dem Altmannschen Säurefuchsin (vgl. § 555). 2. Abkühlen und Abwaschen des Farbüberschusses mit dest. Wasser. 3. Färben in einer 0,5%igen wässerigen Thionin- oder Toluidinblaulösung (1—2 Minuten). 4. Abspülen mit dest. Wasser. 5. Differenzieren in einer 0,5%igen Lösung von Aurantia in 70%igem Alkohol (20—40 Sekunden). Kontrolle mit dem Mikroskop. 6. 96%iger Alkohol, abs. Alkohol, Xylol, Balsam. Resultat: Plastosomen intensiv bläulich rot, Chromatin blau. Protoplasma gelbbraun, Dotterkörnchen blaurot.

D. Die Darstellung des Golgischen Binnenapparates.

557. Am sichersten ist die von **Cajal** angegebene **Urannitratmethode:**

1. Kleine Stückchen von ganz frischem Gewebe (der Apparat ist sehr rasch veränderlich) kommen für 10 bis 14 Stunden in Formol 15 ccm, dest. Wasser 85 ccm, Urannitrat 1 g. Manchmal, besonders bei Nervenzellen, fixiert man besser in: Formol 15—20 ccm; dest. Wasser 80 ccm; Äthylalkohol 30 ccm; Urannitrat 1 g.

2. Nach raschem Abwaschen der Stücke in dest. Wasser (einige Sekunden) kommen sie in eine 1—1,5%ige Lösung von Argent. nitric., worin sie je nach Größe 36 bis 48 Stunden bleiben.

3. Nach raschem Abwaschen in dest. Wasser kommen die Stücke für 8—24 Stunden in folgende Reduktionsflüssigkeit: Hydrochinon 1—2,0 g; Formol 15 ccm; Wasser 100 ccm; Natriumsulfit (wasserfrei!) 0,5 g (d. h. eine Menge Natriumsulfit, die hinreichend ist, um in dem Bade sofort eine gelbliche Färbung zu erzeugen).

4. Nach Abspülen in gewöhnlichem Wasser, Härtung in Alkohol und Einbettung in Paraffin oder Zelloidin. — Ist die Imprägnation gut gelungen, dann tritt der Golgi-Apparat schwarz auf hellem gelben Grunde scharf hervor. Am leichtesten glückt sie an embryonalem und jugendlichem Säugetiermaterial.

558. Von besonderer Wichtigkeit für das Gelingen der Methode ist die **Neutralisierung** der in Formol gewöhnlich vorhandenen Ameisensäure durch Kalium-, Magnesium- oder

Natriumkarbonat. Sowohl das zur Lösung 1 wie Lösung 3 verwandte Formol muß unbedingt säurefrei sein.

559. Björkenheim (13) tont die Schnitte von derartig fixiertem Material nach Lösung des Paraffins sodann 1. in Lösung A: Natriumhyposulfit 30 g; Zyanschwefelammonium 30 g; dest. Wasser 1000 ccm; Lösung B: Goldchlorid 1 g; dest. Wasser 100 ccm. Lösung A und B vor Gebrauch zu gleichen Teilen vereinigt. 2. Sorgfältiges Abspülen in Wasser, sodann 5—10 Minuten Bleichen nach Veratti in übermangansaurem Kali 0,5 g; Schwefelsäure 1 ccm; dest. Wasser 1000 ccm. 3. Kurz in 1%iger Oxalsäure. 4. Gut waschen in dest. Wasser; 5. Färbung in Karmalaun 30 Minuten; Alkohol, Xylol, Balsam.

560. Weniger konstant sind die Resultate bei Fixierung nach Golgi. 1. Man fixiert 1—24 Stunden in käuflicher arseniger Säure, gesättigte Lösung 100 ccm; Formol 20 ccm; 96%iger Alkohol 20 ccm; 2. Einlegen in 1%iger Lösung von Silbernitrat. 24—48 Stunden. 3. Rasches Abspülen in dest. Wasser. Übertragen in Hydrochinon 2 g; Formol 5 ccm, Natriumsulfit (wasserfrei) 0,5 g; dest. Wasser 100 ccm (wird unmittelbar vor Gebrauch bereitet). Nach 24 Stunden 4. auswaschen mit Wasser, rasche Übertragung durch Alkohol in Chloroform; 5. schnelle Einbettung in Paraffin. Die Schnitte werden dann noch ev. nach § 559 vergoldet.

561. Sowohl bei § 557 wie bei § 559 und 560 tritt eine vollständige Imprägnierung des Apparates meist nur in einer schmalen Zone des Präparates ein. Von Wichtigkeit ist die Zeitdauer der Fixierung, die durch Probieren für jedes Objekt festgestellt werden muß. Häufig trifft man schon nach drei Stunden die beste Imprägnierung, die dann bei längerer Dauer wieder zurückgeht.

562. **Kopsch** (02) bringt kleine Gewebestückchen in 2%ige Osmiumsäure. Die Färbung des Binnenapparates beginnt gewöhnlich am 5. Tage. Bei Spinalganglien ist sie gewöhnlich am 8. Tage am besten, Material von Drüsen usw. braucht etwas länger. Bleibt das Objekt zu lange in der Flüssigkeit, dann verdeckt die allgemeine Schwärzung den Apparat. Einbettung durch Alkohol und Xylol in Paraffin.

563. Sjövall (06) fixiert 8 Stunden in Formol 1 Teil + 3 Teile dest. Wassers bei 5—7° C im Dunkeln, wäscht 1 Stunde mit Wasser aus und imprägniert 2 Tage bei 35° C mit 2%iger Osmiumsäure. (Das Formol muß säurefrei sein!)

564. Um Binnenapparat und Plastosomen gleichzeitig darzustellen, imprägniert Hirschler (15) zuerst nach der Kopschschen Methode und bettet in Paraffin ein. Dann bleicht er die Schnitte unter Kontrolle unter dem Mikroskop in 0,1%igem Kal. hypermanganic., bis nur mehr der

Binnenapparat geschwärzt ist. Sodann Unterbrechen der Differenzierung mit 0,1%iger Oxalsäure, Auswaschen und Nachfärbung nach Altmann (§ 554).

565. Zur Darstellung der **Trophospongien** fixiert Holmgren (02) 24 Stunden in 2,5—5%iger Trichlormilchsäure und bringt durch 50-, 60-, 70-, 80- und 96%igen Alkohol (je 24 Stunden) und Xylol oder Schwefelkohlenstoff in Paraffin. Die 4—5μ dicken Schnitte werden in Weigerts Resorcin-Fuchsin (§ 814) 24—48 Stunden gefärbt und durch abs. Alkohol und Xylol in Balsam gebracht.

Die immer frisch hergestellte Farblösung (ca. 150 ccm) wird nach Abkühlen mit 96%igem Alkohol bis 190 ccm verdünnt unter Zusatz von 4 ccm Salzsäure. Mitunter wird die Färbung noch schärfer, wenn man die Schnitte nach derselben aus dem 96%igen Alkohol noch 30 Minuten in eine 0,5%ige Chromsäurelösung legt.

E. Nachweis von Fett- und Lipoidsubstanzen.

1. Neutralfette.

566. In **frischen** Präparaten erkennt man die Fettsubstanzen der Zelle an ihrer starken Lichtbrechung. Das Auftreten und allmähliche Größerwerden der Fettröpfchen kann man besonders an Gewebekulturen sehr schön beobachten. Durch Osmiumdämpfe lassen sich die Substanzen gut fixieren. Durch Äther, starken Alkohol, Benzol, Chloroform, Azeton u. a. werden sie gelöst.

567. Behandelt man ganz frisch herausgenommene Fettstückchen 24 Stunden lang in einer 0,5—1%igen **Osmiumsäurelösung**, so färben sich **olein-** und **oleinsäurehaltige** Substanzen durch Reduktion des Osmiumtetroxyds zu Osmiumoxyd schwarz (primäre Schwärzung). Die übrigen oleinfreien Fette werden durch Osmiumsäure zwar fixiert, aber nur gebräunt. Erst nach Auswaschen mit Wasser und Nachbehandeln mit Alkohol (70—80%igen) tritt auch bei ihnen Schwärzung ein (sekundäre Schwärzung). Altmann (94). Starke. Statt in reiner Osmiumsäure kann man auch 1—3 Tage mit den Gemischen von Altmann, Flemming usw. fixieren, vergl. jedoch auch § 1131.

568. Das mit Osmiumsäure geschwärzte Fett löst sich mehr oder weniger leicht in Xylol, Toluol, Benzol, Äther, Kreosot, Terpentin, Thymen u. a. Schwerer geht es in Chloroform, Nelkenöl, Bergamottöl oder Terpineol in Lösung; am besten bleibt es in Zedernöl und in Paraffinum

liquidum erhalten. Beim Einbetten in Paraffin nehme man daher statt Xylol usw. Chloroform oder Zedernöl (vgl. § 155).

569. Die osmierten Substanzen der Nebenniere (H. Rabl 91), der Thymus, der Winterschlafdrüse (Schaffer 96), der Hypophyse, der Pubertätsdrüsen u. a. lösen sich auch in Bergamottöl und Chloroform. Da man also beim Einbetten in Paraffin oder Zelloidin immer mit einer Lösung von osmierter Substanz zu rechnen hat, ist für exakte Untersuchungen das Schneiden der osmierten Präparate mit dem Gefriermikrotom oft vorzuziehen.

570. Häufig, insbesondere bei größeren Präparaten empfiehlt es sich, zuerst mit Formol, Orthscher Flüssigkeit od. dgl. vorzufixieren und die Osmierung an Gefrierschnitten vorzunehmen. Der Vorgang gestaltet sich dann folgendermaßen: 1. Fixieren in Formol od. dgl. 2. Auswaschen. 3. Schneiden auf dem Gefriermikrotom, Auffangen der Schnitte in dest. Wasser. 4. Osmieren der Schnitte in 1%iger Osmiumsäure, Flemmingscher Lösung od. dgl. 24 Stunden [in Marchischem Gemisch (s. § 1111 bei 37^0 etwa 3 Stunden]. 5. Mehrstündiges Auswaschen. 6. Untersuchen in Glyzerin, Kali aceticum, ev. vorher zur sekundären Schwärzung der oleinfreien Fette Einlegen in 80%igen Alkohol auf 24 Stunden. — Man kann dann zur Darstellung von Kern und Protoplasma noch mit Safranin oder Parakarmin und Lichtgrün nachfärben, mit abs. Alkohol entwässern und die Präparate durch Zedernöl (1—2 Minuten) in Paraffin. liquid. bringen und hier eindecken.

571. Sata fixiert zuerst 2—3 Tage in Flemmingscher Lösung und legt die Gefrierschnitte dann nochmals 24 Stunden in Flemmingsche Lösung.

572. Über das Bleichen osmierten Fettes s. § 630 ff., ferner § 548.

573. Bei der Deutung der durch Osmiumsäure dargestellten Strukturen ist zu beachten, daß sich unter Umständen auch fettfreie Elemente (Gerbsäure, Eleidin u. a.) schwärzen können.

574. Zuverlässiger und einfacher als die Osmiumreaktion sind meist die Färbemethoden mit den Azofarbstoffen **Sudan III** oder **Scharlach R** (Fettponceau). Dagegen dürfen bei ihrer Anwendung die Schnitte mit höherprozentigem Alkohol nicht in Berührung kommen.

575. Färbung mit Sudan III (Daddi). 1. Man fixiert in Formol oder nach Orth. Nach Auswaschen in Wasser wird mit dem Gefriermikrotom geschnitten. Die Schnitte

werden in dest. Wasser aufgefangen, kurze Minuten in 50%igen Alkohol übertragen und zur Färbung auf 20—30 Minuten oder auch länger in Sudan III gebracht. (Man löst Sudan III in heißem 70%igen Alkohol, läßt abkühlen und absetzen. Vor dem Gebrauch wird filtriert. Das Färben muß in einem gut geschlossenen Glastubus vorgenommen werden, um Farbniederschläge durch Verdunsten des Alkohols zu vermeiden.) Nach der Färbung spült man in 50%igem Alkohol kurz ab und wäscht in dest. Wasser gut aus. Es empfiehlt sich meist, noch eine Kernfärbung mit Hämalaun anzufügen. Dann deckt man nach Auswaschen mit Wasser die Präparate in Glyzerin, Glyzeringelatine, Kali aceticum oder Gelatine (§ 484) ein. Resultat: Fettsubstanzen intensiv orange.

576. W. Rosenthal empfiehlt zur Fixierung ein Gemisch von gesättigter wässeriger Pikrinsäure (100 ccm) und Formol (5 ccm). Nach 24 Stunden Auswaschen mit Wasser. Schneiden mit dem Gefriermikrotom usw.

577. Sudan III färbt auch oleinfreies Neutralfett, das sich bei Osmierung erst sekundär im Alkohol schwärzt. Lezithin und Myelin färben sich schwach rosa.

578. Füttert man Tiere mehrere Tage mit Sudan III oder Scharlach *R*, so färbt sich das ganze Fett orange. Bei der Maus genügen 0,4 ccm der Farblösung (Jacobstal 09).

579. Scharlach R (Michaelis) verhält sich dem Fettgegenüber wie Sudan III, färbt aber in der von Herxheimer (01) angegebenen Lösung rascher. Vorbehandlung wie § 575 (Sudan), dann 2—3 Minuten in: Alkohol abs. 70,0; Wasser 10,0; 10%ige Natronlauge 20,0, dazu Scharlach R bis zur Sättigung. — Abspülen in 70%igem Alkohol, Auswaschen in Wasser usw. wie bei Sudanfärbung. Resultat: Fettsubstanzen rotorange.

580. Eine zweite, von Herxheimer angegebene Lösung färbt noch intensiver. Sie besteht aus: 70%igem Alkohol 50,0; reinem Azeton 50,0; dazu Scharlach *R* bis zur Sättigung.

581. Weniger zuverlässig ist die Fettfärbung mit **Nilblausulfat** (Lorrain Smith 08). Fixierung in Formol. Die Gefrierschnitte kommen 10 Minuten in eine konzentrierte wässerige Lösung von Nilblausulfat. Kurzes Differenzieren in 1%iger Essigsäure. Gründliches Auswaschen in Wasser. Einlegen in Glyzerin oder Kali aceticum. Resultat: Neutralfette leuchtend rot, Fettsäuren dunkelblaue glänzende Tropfen. Kerne dunkelblau, Protoplasma hellblau. Da die Fette des Gewebes jedoch meist Mischungen darstellen, so nehmen sie oft eine violette Mischfarbe an.

2. Fettsäuren.

582. Nachweis nach Fischler: 1. Fixierung in Formol (1 : 10); 2. Die Gefrierschnitte kommen auf 2—3 Stunden in eine konz. Lösung von Cupr. acetic. bei 35—37° C. 3. Auswaschen in dest. Wasser. 4. Färben (mindestens 20 Minuten in folgendem, von Weigert angegebenen Hämatoxylin: Lösung a: Hämatoxylin 1,0; abs. Alkohol 10,0. Lösung b: konz. wässerige Lösung von Lithionkarbonat 1,0; dest. Wasser 9,0. Zur Färbung mischt man a und b und läßt vor Gebrauch einige Tage stehen. 5. Die darin überfärbten Schnitte werden in stark verdünnter Boraxferrizyankalium-Lösung (rotes Blutlaugensalz 2,5 g; Borax 2,0 g; dest. Wasser 100,0) solange differenziert, bis die roten Blutkörperchen entfärbt sind. 6. Gründliches Auswaschen in dest. Wasser. 7. Eindecken in Glyzerin oder Glyzeringelatine oder Entwässern mit abs. Alkohol, Benzin, Kanadabalsam (Xylol kann die Fettsäuren unter Umständen lösen). Resultat: Fettsäuren tiefschwarz gefärbt. Außerdem können sich noch Eisen, Kalk und die Granulationen von eosinophilen Leukozyten und von Mastzellen färben. Man kann gleichzeitig auch noch durch Nachfärbung mit Scharlach *R* die Neutralfette sichtbar machen.

583. Zur **Unterscheidung der Fettsäuren von Kalk** bringt man die Schnitte nach dem Kupfern in 1%ige wässerige Salzsäure, worin sich der Kalk löst. Eisen kann man durch 1%ige Oxalsäure lösen.

584. Um die **Kalium-** und **Natriumsalze der Fettsäuren,** welche durch Formol gelöst werden, zu färben, fixiert man in 10%iger Formalinlösung, der bis zur Sättigung Calcium salicylicum zugesetzt ist, wodurch die genannten Seifen in wasserunlösliches fettsaures Calcium umgewandelt werden, das dann nach § 582 (Fischler) gefärbt werden kann.

585. Zur **Unterscheidung zwischen Fettsäuren und Seifen** bringt man die Schnitte nach dem Kupfern in Ätheralkohol, wodurch die Fettsäuren gelöst werden.

3. Cholesterin und Verbindungen desselben.

586. Die Cholesterinester der Fettsäuren färben sich mit Nilblausulfat rötlich, mit Sudan gelblichrot. Im polarisierten Licht sind sie doppelbrechend. Die Doppelbrechung geht beim Erwärmen verloren, um beim Erkalten wieder aufzutreten.

587. Zum Nachweis von Cholesterin in Schnitten bringt Golodetz auf einen Gefrierschnitt ein Deckglas, dessen Unterfläche einen Tropfen Formalin-Schwefelsäure-Gemisch (Formalin 30%ig 2 Teile, Schwefelsäure 5 Teile) trägt. Das cholesterinhaltige Gewebe färbt sich nach 1—2 Minuten stark braunrot. Reines Cholesterin schwärzt sich nicht mit Os-

miumlösung. Dies kann zur Unterscheidung gegenüber Olein und anderen Fetten benutzt werden, die ebenfalls die Braunfärbung auf Formolschwefelsäure zeigen können. In abs. Alkohol, Azeton, Äther, Benzol usw. ist Cholesterin löslich.

4. Lipoide.

588. Zur Darstellung der Lipoide fixiert man nach Ciaccio (10) kleine Stückchen 2 Tage in 5%igem wässerigem Kal. bichrom. 80,0; 40%igem Formol 20,0; Ameisensäure 4—5 Tropfen oder besser Eisessig 5 ccm. 2. Nachchromieren 5—8 Tage in 3%igem wässerigen Kal. bichrom. 3. Auswaschen 24 Stunden in fließendem Wasser. 4. Steigender Alkohol 24 Stunden. Abs. Alkohol 1—2 Stunden. Einbetten in Paraffin nach Durchführen durch Schwefelkohlenstoff (oder Benzol). Die aufgeklebten, entparaffinierten Schnitte kommen aus 70%igem Alkohol, am besten in folgende Sudan III-Lösung: Äthylalkohol 80%ig 95 ccm; Azeton 5 ccm; Sudan bis zur Sättigung der auf ca. 50° erwärmten Flüssigkeit. Nach Erkalten wird filtriert. Die Schnitte werden in dieser Lösung ½—1 Stunde bei 30° C gefärbt, wenige Sekunden in 50%igem Alkohol abgespült und in dest. Wasser gut ausgewaschen. Ev. Nachfärbung mit Hämalaun. Einschluß in den Gummisirup von Apathy oder in Glyzerin. Auch Färbung mit Nilblausulfat ist möglich. Die Lipoide färben sich orangegelb bzw. violett oder blauviolett.

589. Kasarinoff empfiehlt zur Einbettung: Gummi arabic. 50,0 g, Rohrzucker 20 g; Wasser 50 ccm; Thymol 0,05 g. Nach Lösen bei 55° Filtrieren.

590. Zur Differenzierung der Lipoide von den Neutralfetten schließt Ciaccio an die oben beschriebene Fixierung und Chromierung eine mehrtägige Behandlung mit der Marchischen Mischung (vgl. § 1111). Weiterbehandlung dann wie oben. Während die Lipoide sich in diesem Falle mit Sudan oder Nilblau färben lassen, erscheinen die Fette durch Reduktion der Osmiumsäure schwarz.

591. Die Chromierung macht die in Alkohol ursprünglich sehr leicht löslichen Lipoide mehr oder weniger unlöslich. Immerhin geht auch nach sehr lang dauernder Chromierung (z. B. 3wöchentliche Härtung in Müllerscher Flüssigkeit) bei der nachfolgenden Alkoholbehandlung [nach Mayer, Schaeffer und Rathery (12, 13)] etwa die Hälfte in Lösung, bei anderen Flüssigkeiten noch mehr. Auch bei der Methode von Ciaccio gehen Fett- und Lipoidsubstanzen durch Lösung verloren (vgl. Bell. 11).

592. Dietrich empfiehlt die Methode von L. Smith wie folgt: 1. Fixierung in Formol. Gefrierschnitte. 2. Chromierung der Schnitte 24—48 Stunden in 5%igem Kalium bichromat. bei 37°. 3. Abspülen in Wasser. 4. Färben in essigsaurem Hämatoxylin nach Kultschitzky (10%ige mindestens ein halbes Jahr alte Lösung von Hämatoxylin in abs. Alkohol 10,0 + 2%ige Essigsäure 90,0) 4—5 Stunden bei 37°. 5. Abspülen in Wasser. 6. Differenzieren in Boraxferrizyankaliumlösung nach Weigert (vgl. § 994, 7) über Nacht. 7. Gründliches Auswaschen in Wasser. 8. Einschluß in Lävulose. Die lipoiden Substanzen sind blauschwarz gefärbt. In gleicher Weise können sich Eisen, Hämoglobin und hämatogene Pigmentefärben (s. a. § 1010).

593. Eine ausführliche Darstellung der Reaktionen der verschiedenen Fette und Lipoide findet sich bei Kawamura (11) und Ziveri (12).

F. Nachweis von Glykogen.

594. Die zur Untersuchung auf Glykogen bestimmten Präparate müssen lebensfrisch fixiert werden, da das Glykogen postmortal sehr bald in Zucker übergeht. Wegen seiner starken Löslichkeit in Wasser ist ferner die Berührung mit Wasser zu vermeiden, weshalb am besten in abs. Alkohol oder im Carnoyschen Gemisch fixiert wird. Im fixierten Präparat bekommt man das Glykogen meist in Form von Tropfen oder Granulis, während es intra vitam wahrscheinlich diffus in der Zelle verteilt ist.

595. Die sicherste Methode für den Glykogennachweis ist die Jodreaktion in Verbindung mit der Speichelreaktion. Die schönsten, klarsten Bilder gibt die Bestsche Färbung. Da sich mit derselben aber auch manches andere färbt, so muß dieselbe durch die Jodreaktion im Zweifelsfall geprüft werden.

596. Jodreaktion nach Langhans. Die in abs. Alkohol fixierten Objekte werden in Paraffin eingebettet. Die Paraffinschnitte werden nach § 280 aufgeklebt und durch Toluol und abs. Alkohol in Lugolsche Lösung (5—10 Minuten) gebracht. Sodann Entwässern in abs. Alkohol, dem auf 4 Teile 1 Teil einer 10%igen Jodtinktur zugesetzt ist. Aufhellen und Einschließen in Origanumöl. Das im Präparat vorhandene Glykogen ist braunrot gefärbt. Bringt man die Präparate vorher mit Speichel in Berührung, so bleibt die Glykogenreaktion aus. (Unterschied gegenüber Amyloid, das sich mit Jod ebenfalls bräunt.) Die Haltbarkeit der Präparate ist nur gering.

597. Nach Kankato und Bleibtreu kommt im Ovarium des Frosches eine Glykogenmodifikation vor, die gegen die gewöhnlichen Jodmethoden resistent ist. Bleibtreu hat zu ihrem Nachweis eine eigene Methode angegeben.

598. Sehr schöne Präparate erhält man nach der Methode von **Best.** Man fixiert in abs. Alkohol oder nach Carnoy. Die Einbettung folgt am besten in Zelloidin oder in Zelloidin-Paraffin.

1. Intensive Kernfärbung in Hämalaun, Böhmerschem oder Ehrlichschem Hämatoxylin. 2. Gründliches Auswaschen. 3. Färben für 5 Minuten oder länger in folgender Farblösung: Bestsche Karminstammlösung 20,0 (filtrieren)! + Liqu. Ammon. caustic. 30,0 + Methylalkohol 30,0. Hierauf direktes Übertragen (kein Wasser) zur Differenzierung in: Methylalkohol 40 ccm + abs. Alkohol 80 ccm + dest. Wasser 100 auf 1—5 Min., bis die erneuerte Differenzierungsflüssigkeit klar bleibt. 5. Abspülen in 80%igem Alkohol, Entwässern, Xylol, Balsam. Resultat: Das Glykogen ist intensiv rot, die Kerne blau. Außer Glykogen färbt sich auch noch Schleim, Fibrin, Granula der Mastzellen der Magendrüsen.

Herstellung der Bestschen Karminstammlösung: Man kocht 2 g Karmin (opt. rubr. Grübler), 1 g Kaliumkarbonat und 5 g Chlorkalium einige Minuten mit 60 ccm dest. Wasser (Vorsicht, schäumt stark!) und setzt nach Erkalten 20 ccm Ammoniak zu. Die Lösung ist sofort gebrauchsfähig und hält sich gut verschlossen und kühl aufbewahrt im Sommer 1, im Winter etwa 2 Monate (dunkle Flasche). Vor dem Verdünnen muß filtriert werden. Die verdünnte Lösung hält sich nur wenige Tage.

599. Zelloidineingebettete Schnitte können mit wässerigen Lösungen ohne Gefahr einer Lösung des Glykogens in Berührung kommen. Paraffinschnitte, welche jedoch weniger gute Resultate geben, müssen nach Lösung des Paraffins und Einstellen in abs. Alkohol mit einer dünnen Zelloidinlösung übergossen werden (Arnold). Sodann Härtung in 80%igem Alkohol. Zum Strecken der Schnitte beim Aufkleben nehme man warmen Alkohol (ca. 60%), um eine Lösung des Glykogens zu vermeiden. Glykogen ist in mehr als 55%igem Alkohol unlöslich (Röhmann 08).

600. Neukirch (09) empfiehlt zur Glykogenfixation eine mit Dextrose gesättigte, wässerige Sublimatlösung. Dann Auswaschen in 80%igem Jodalkohol, der ebenfalls mit Dextrose gesättigt ist, Zelloidineinbettung und Färbung nach Best; für Gefrierschnitte fixiert er in 36%igem, dextrosegesättigtem Formalin, überträgt in gesättigte Dextroselösun g

fängt in ebensolcher die Gefrierschnitte auf und färbt nach Best. Bei Hämalaunvorfärbung ebenfalls Sättigung mit Dextrose.

601. P. Mayer (09) löst 0,7 g Gallussäure (Grübler) in 5 ccm dest. Wasser, setzt 1,5 g Liqu. ferr. sesquichlor. (oder 0,7 g Eisenchlorid) zu, dann 1 ccm Ammoniak und füllt mit 50%igem Alkohol auf 100 ccm auf. In diese Tinte werden aufgeklebte oder unaufgeklebte Paraffinschnitte (ev. nach Vorfärbung mit Parakarmin) 10 Minuten bis einige Stunden gefärbt. Auswaschen mit 50%igem Alkohol usw., Einschluß in Balsam oder Euparal. Glykogen schwarz gefärbt.

602. Die Methode von Vastarini-Cresi (09) ist unsicher.

603. Zur gleichzeitigen **Fixierung von Glykogen und Fett** verdünnt Gelei (13) eine 1—2%ige Osmiumsäurelösung mit gleichen Teilen abs. Alkohols. Um eine Reduktion der Osmiumsäure durch den Alkohol zu verzögern, setzt man etwas Natriumjodat zu und fixiert bei 0^0 im Eisschrank. Das Glykogen läßt sich hierauf nach der Bestschen Methode bei 5—10mal längerer Färbedauer sehr elektiv darstellen. Ferner empfiehlt Gelei Fixierung in Osmiumsäure 1%ig (1 T.), Kaliumbichromat 4%ig (2 T.), abs. Alkohol (3 T.). Auch hiermit wird bei 0^0 fixiert. Nach der Fixierung (24 Stunden) wird bei beiden Flüssigkeiten mit eisgekühltem 55%igen Alkohol ausgewaschen. Fixiert man mit der letztgenannten Flüssigkeit, dann kann man zur Färbung der Plastosomen gleich noch die Schultzesche Osmiumhämatoxylinfärbung im Stück anschließen.

604. Zieglwallner (11 u. 13) fixiert Glykogen und Fett gleichzeitig durch folgendes Gemisch: Trichlormilchsäure in Subst. 9 g, 2%ige Osmiumsäure 24 ccm, Eisessig 9 ccm, dest. Wasser 58 ccm oder statt dessen in 10%iger wässeriger Chromsäure 1,5 ccm + 2%iger wässeriger Osmiumsäure 4 ccm + Eisessig 1 ccm + 75%iger Alkohol 13,5 ccm. Nach 10—12 Stunden wird mit 50%igem Alkohol 1 Stunde oder länger ausgewaschen. Paraffinschnitte können mit oder ohne Eiweißglyzerin mit 60%igem Alkohol aufgeklebt werden (Koagulation des Eiweißes. aber durch Alkohol, nicht durch Erwärmen). Färbung nach Best, Nachfärbung mit Bleu de Lyon (10 in 250 abs. Alk.) 5 Minuten. Ich ziehe die Behandlung nach § 603 vor.

G. Nachweis von Fermenten.

605. Winkler (07) stellte im Protoplasma von Leukozyten durch Einwirkung einer 1%igen schwach alkalischen Lösung von α-Naphthol (1—2 Minuten) und ebensolange Nachbehandlung mit einer 1%igen Lösung von Dimethyl-

paraphenylendiamin blaugefärbte Granulationen dar. Die Reaktion (Naphtholblausynthese) ist durch oxydierende Fermente **(Oxydasen)** der betreffenden Zellen bedingt. W. Schultze (09) wies mit Hilfe dieser Reaktion, die mehrfach modifiziert wurde, auch in vielen anderen Zellen Oxydasen nach.

606. Gräff (16) modifiziert die Methode wie folgt: 1. Man löst 0,5 g α-Naphthol durch Kochen in 250 bis 300 ccm dest. Wassers und läßt in brauner Flasche erkalten (2—3 Wochen haltbar). 2. 0,5 g Dimethyl-*p*-Phenylendiamin (von Merck in Glasröhrchen eingeschmolzen zu beziehen, da es an der Luft leicht verdirbt) werden unter leichtem Schütteln in 250 ccm dest. Wassers gelöst. Die Lösung bekommt ihre volle Färbekraft erst nach 12 bis 24 Stunden; sie ist in brauner Flasche 2—3 Wochen haltbar. 3. Zur Färbung filtriert man gleiche Mengen beider Lösungen in ein Schälchen und färbt darin gut ausgebreitete (!) Gefrierschnitte von formolfixiertem oder frischem Material 10—15 Minuten unter oftmaligem Schwenken (!), bei älteren Lösungen länger. Das Gemisch ist nur für einige Schnitte brauchbar, dann erneuern. 4. Abspülen mit dest. Wasser und Einlegen für 2—3 Minuten in verdünnte Lugolsche Lösung (1 : 2 Teile dest. Wasser). 5. Einlegen in dest. Wasser, dem einige Tropfen einer konz. wässerigen Lithionkarbonatlösung zugesetzt sind. 10 Minuten bis 24 Stunden, bis die anfangs braunen Granula gebläut sind. 6. Gegenfärbung mit wässerigen Lösungen wie Alaunkarmin, Hämalaun, Eosin o. d., Abspülen in Wasser. Einlegen in Glyzeringelatine. Resultat: Die Oxydasegranula sind stark dunkelblau gefärbt. Die Präparate sind mehrere Monate haltbar. — Die Färbung muß möglichst bald nach Herstellung der Gefrierschnitte vorgenommen werden.

607. W. H. Schultze (17) erhitzt zur Herstellung der α-Naphthollösung 1 g α-N. in 100 ccm dest. Wassers zum Kochen und setzt tropfenweise soviel konz. Kalilauge zu, bis sich das geschmolzene α-N. vollständig gelöst hat. Die überstehende erkaltete Flüssigkeit ist brauchbar. Das übrige wie in § 606. Blutabstriche fixiert Schultze 2 Stunden in Formolalkohol (1 : 4).

608. Schmorl (18) empfiehlt statt Lugolscher Lösung eine konz. wässerige Lösung von Ammon. molybdaenic., da diese die Schnitte ungefärbt läßt.

609. Dopa-Reaktion. Bloch (17) will durch Behandlung von Gewebstückchen oder Schnitten mit 3 · 4 Dio-

xyphenylalanin (abgekürzt »Dopa«) ein spezifisches intrazelluläres Oxydationsferment nachweisen, durch das das Dioxyphenylalanin in Melanin übergeführt werden soll. Er betrachtet das D. als Muttersubstanz des Melanins.

Technik: Man legt lebensfrische Hautstücke in lauwarme Agarlösung, läßt die Substanz durch Erkalten zu einer festen Gallerte erstarren und schneidet mit dem Gefriermikrotom. Die möglichst dünnen Schnitte kommen bei Zimmertemperatur auf 24 Stunden vor Verdunsten geschützt in eine 1 bis 2%ige wässerige Lösung von Dioxyphenylalanin. Erfolgt die Reaktion zu schwach, dann färbt man im Brutschrank. Sodann wird in dest. Wasser sorgfältig abgespült, in steigendem Alkohol entwässert und durch Xylol in Balsam eingebettet. Nachfärbung z. B. mit Methylgrün-Pyronin zulässig. Resultat: Das Plasma der Zellen der Epidermis färbt sich diffus oder granulär gelbbraun bis schwarz. In der Kutis färben sich polynukleäre Leukozyten durch die Phenolase.

610. Nach Kreibich (18) sind ähnliche Erfolge jedoch auch mit Dimethylphenylendiamin zu erhalten.

611. Nach Matsunaga (18) fällt die Dopareaktion überall positiv aus, wo die Winkler-Schultzesche Reaktion positiv ist (z. B. Granula des myeloiden Systems). M. bringt Gefrierschnitte von frischem oder noch besser von formolfixiertem Material auf 24 Stunden in eine 1—2%ige Lösung von Dopa wie in § 609. Die Präparate sind gut haltbar.

612. Unna (15a) nimmt seine **Rongalitweißmethode zum Nachweis der Sauerstofforte** der Zellen nun folgendermaßen vor: 1. Vorbereitung. Die Gewebe können frisch untersucht werden. Besser wartet man aber die agonalen Schwankungen ab und untersucht die trocken auf Eis gelegten Stücke erst nach 24 Stunden. In jedem Fall muß das Gewebe unter der Wasserleitung von Blut befreit werden. 2. Schneiden erfolgt auf dem Gefriermikrotom in unfixiertem Zustand. Schnittdicke nicht unter 25 μ. 3. Färbung: Man hält sich 100 ccm einer 0,5%igen Lösung von Methylenblau vorrätig, die man mit ca. 7 Tropfen einer 25%igen Salzsäurelösung angesäuert hat. Davon werden 10 ccm im Reagierglas mit 0,3 g Rongalit (Badische Anilin- und Sodafabrik oder Heraldit von Casella) bis zur Entfärbung gelinde erwärmt. (Wegen möglicher Zersetzung nicht zu stark erhitzen!) Trübt sich die wasserhelle, mehrere Tage haltbare Lösung, so wird sie filtriert. Man färbt 2 Minuten in einem Glasschälchen. Sodann überträgt man die Schnitte einzeln mit Glasnadel unter ständiger Bewegung, um die Schnitte möglichst rasch und vollständig

vom Überschuß des R. W. zu befreien, in eine größere Schale mit abgekochtem Wasser. Die Bläuung erfolgt erst nach einigen (bis 10) Minuten. (Ausstrichpräparate bringt man ohne Erhitzen lufttrocken 2 Minuten in ein Standgefäß mit R. W. usw.) 4. Einbettung. Ist der Schnitt deutlich gebläut, dann fängt man ihn auf dem Objektträger auf, befreit seine Umgebung mit Löschpapier vom Wasser und läßt ihn langsam austrocknen. Nach vollständigem Austrocknen bedeckt man ihn mit einem Deckglas, das mit einem Tropfen neutralen Kanadabalsams (Grübler) versehen ist. Ausstriche werden trocken aufbewahrt. Resultat: Sauerstofforte blau.

613. Zur Darstellung der Reduktionsorte bringt Unna (15b) frische oder formolfixierte Gefrierschnitte (auch Alkoholfixierung und Einbettung in Paraffin oder Zelloidin ist zulässig) für 1 höchstens 5 Minuten in 1%ige Lösung von Kaliumpermanganat, spült in Wasser ab und bringt durch Alkohol und Öl in Balsam. Resultat: Reduktionsorte braun.

614. Nach Schneider (14 a u. b) wird die durch das Rongalitweiß erfolgende Bläuung durch von außen zutretenden Sauerstoff bewirkt. Ein sicherer Nachweis von primären Sauerstofforten im Sinne Unnas durch die R. W.-Methode ist gänzlich unausführbar. Ähnlich auch Oelze (14a, b u. c). S. auch Entgegnungen von Unna (14) und Golodetz (14).

615. Zur Feststellung chemischer Eigenschaften der Gewebe nimmt Unna (18) »Neutralviolett extra« (Grübler). Man färbt frische, nicht fixierte Gefrierschnitte 5—10 Minuten in einer 0,5%igen wässerigen Lösung. Nach Abspülen in Leitungswasser, worin sie sich nicht weiter entfärben, kommen sie zur Differenzierung in 96%igen Alkohol, worin der überschüssige rote Farbstoff ausgezogen wird. Meist schon nach 10—15 Sekunden kann der Schnitt in Bergamottöl übertragen werden. Von hier Einschluß in Balsam. Nach Unna färben sich dabei die reduzierenden sauren Eiweiße des Präparates durch das Neublau des Neutralviolettes blau, die oxydierenden sauren Eiweiße durch das Neutralrot rot. Ersteres entspricht dem Reduktionsbild des Kaliumpermanganats, letzteres dem Oxydationsbild des Rongalitweißes.

H. Die Untersuchung der Pigmente.

616. Im menschlichen Organismus kann man zwischen **hämatogenen** und **autochthonen Pigmenten** unterscheiden. Zu den ersteren zählt das Hämosiderin und Hämatoidin (und Malariapigment), den zu letzteren das Abnutzungspigment (Lipofuchsin) und Melanin. Dazu kämen noch die meist äußerst labilen Lipochrome.

617. Zur Trennung der menschlichen Pigmente ist weniger ihre morphologische Form als vielmehr ihr Verhalten gegen Säuren, Alkalien, Fettlösungsmittel, Eisenreagenzien und bestimmte Farben maßgebend. Die Lipochrome erkennt man an der Blaufärbung mit Schwefelsäure (s. auch § 638). Dabei kommt naturgemäß der Untersuchung des frischen, unfixierten und ungefärbten Präparates ganz besondere Bedeutung zu. Zur Fixierung kommt hauptsächlich abs. Alkohol und säurefreies Formol in Betracht. Schwermetallhaltige und säurehaltige Flüssigkeiten sind zu vermeiden.

618. Die Methodik der Trennung der einzelnen Pigmente ergibt sich aus der nebenstehenden Tabelle, welche der eingehenden und wertvollen Arbeit von Hueck entnommen ist, auf die ich zur weiteren Orientierung besonders verweisen möchte.

619. Als besonders geeignete Fundstellen für Hämosiderin gibt Hueck an: Stauungslungen und Milz; für Hämatoidin: Thromben, apoplektische Blutergüsse, Gewebe ikterischer Neugeborener; für Abnutzungspigment (Lipofuscin): atrophischer Herzmuskel, für Melanin: Haut, Auge, s. auch § 609.

620. Lipochrome finden sich im menschlichen Körper nicht sehr reichlich (z. B. Luteinzellen), man studiert sie besser an anderen Wirbeltieren. Vgl. § 640.

621. Die mannigfachen Färbungen von Haut und Hautorganen der Wirbeltiere beruhen, wie W. J. Schmidt in einer sehr wertvollen Arbeit (18) über einschlägige Untersuchungsmethoden darlegt, auf **Strukturfarben, Pigmenten oder einer Vereinigung beider** (z. B. bei der grünen Hautfarbe des Frosches). Die ersten sind an meist sehr feine Strukturen geknüpft, die durch Interferenz des auffallenden Lichtes oder durch Herstellung eines trüben Mediums Farbenerscheinungen veranlassen. Dieselben werden daher verschwinden, wenn die optischen Unterschiede z. B. durch den ausgleichenden Einfluß der Einbettungsmittel beseitigt werden (z. B. Durchtränkung blauer Vogelfedern in Balsam).

622. Weiteres über die bei Untersuchung von **Strukturfarben** anzuwendende Technik s. Biedermann.

623. Pigmentfarben werden dagegen durch bestimmte Farbstoffe erzeugt, die entweder an bestimmte Granula oder Kristalle gebunden sind oder diffus die gefärbte Substanz durchtränken. Zur Untersuchung der Pigmente ist die Fixierungs- wie Beobachtungsflüssigkeit so zu wählen, daß

Tabelle.

		Hämoglobinogene Pigmente			Autochthone Pigmente	
		Malariapigment	Hämatoidin	Hämosiderin	»Fetthaltiges Abnutzungspigment«	Melanin
Morphologisches Verhalten		Körner von braunschwärzlicher Farbe	Kristalle oder Körner von rötlicher oder braungelber Farbe	Schollen, Tropfen oder Körner von goldgelber bis bräunlicher Farbe	Tropfen oder Körner von gelblich-bräunlicher Farbe	Kristallähnliche kleinste Nadeln oder Körner von bräunlicher Farbe
Mikrochemisches Verhalten	gegen Säuren HNO_3, H_2SO_4, HCl, CH_3COOH	in (warmen) alkoholischen Säuren löslich	von konz. Schwefel- und Salpetersäure in Form der »Gmelinschen Reaktion« zersetzt	löslich	unlöslich	unlöslich
	gegen Alkalien KOH, NH_3, Soda	löslich	gelockert und zerkleinert	unlöslich	unlöslich nur zuweilen gelockert	»
	gegen Fettlösungsmittel	unlöslich	(schwer) löslich	»	teilweise löslich	»
	geg. »Bleichungs«mittel	gebleicht	unverändert	unverändert	gebleicht	gebleicht
	gegen Eisenreagentien	negativ	negativ	stets positiv	negativ	negativ
Färberisches Verhalten	geg. basische Farbstoffe (Nilblau Neutralrot)	negativ	negativ	negativ	stets positiv	negativ
	gegen Fettfarbstoffe (Sudan III und Scharlach R. und nach Ciaccio's Methode)	»	»	»	teilweise positiv	»
	nach den Methoden von Fischler, Smith-Dietrich, Weigert (Markscheiden)	»	»	positiv	»	»
	gegen Osmium	»	»	negativ	»	bei sekundärer Osmierung positiv
	gegen Silbernitrat	»	»	»	negativ	positiv

die vielfach sehr empfindlichen Pigmente unverändert erhalten bleiben.

624. Schmidt (17) teilt die in Epidermis und Cutis vorkommenden Pigmentzellen in **Melanophoren,** die ein dunkles körniges Melaninpigment enthalten, **Allophoren** mit gelben bis roten in Alkohol u. dgl. unlöslichen Farbkörnchen, **Lipophoren** (= Xanthophoren, Erythrophoren) mit gelben bis roten Lipochromfarbstoffen in Form von Körnchen, Tröpfchen und Kristallen und **Guanophoren** (= Interferenzzellen, Iridozyten, Leukophoren usw.) mit feinkörnigen oder deutlich kristallinischen Guaninein-schlüssen.

625. Für die Untersuchung von Pigment arbeite man nicht nur mit durchfallendem Licht, sondern auch mit auffallendem, ferner mit polarisiertem Licht und mit Dunkelfeldbeleuchtung. Sehr wichtig sind Kontrolluntersuchungen am lebenden oder überlebenden Objekt.

Untersuchung der Melanophoren.

626. Zur Untersuchung am lebenden Präparat eignen sich besonders die Flossensäume von Frosch-, Tritonen- und Salamanderlarven. Zum Studium der intrazellulären Pigmentkörnchenströmung sei besonders auf das von Ballowitz (14a) angegebene Objekt, die dorsale Hirnhaut von Gobius minutus, verwiesen. Die gleichen Objekte, ferner Fischschuppen, eignen sich auch zur Herstellung von Dauertotalpräparaten. Da das Melanin sehr widerstandsfähig ist, bietet die Fixierung keine Schwierigkeit. Schmidt empfiehlt besonders Alkoholformol und Färbung mit Delafieldschem Hämatoxylin. Über den Einfluß äußerer Faktoren auf Expansion und Ballung der Pigmentzellen siehe insbesondere van Rynbeck (06) und Fuchs (14).

627. Im polarisierten Licht sind die Melaninkörnchen einfach brechend, bei Dunkelfeldbeleuchtung leuchten sie hell, weißlich auf.

628. Zur Herstellung von Schnittpräparaten fixiert man in Sublimatgemischen oder nach Flemming. Beim Einbetten in Paraffin nehme man Chloroform oder Zedernholzöl. Färbung besonders mit Eisenhämatoxylin. Bei Färbung mit basischen Anilinfarben nehmen die Melaninkörnchen in ungebleichtem Zustand vielfach noch Farbe an, wodurch bestimmte Mischfarben entstehen (vgl. Unna 13), weshalb zur Feststellung der Eigenfarbe in un-

gefärbtem oder frischem Zustand untersucht werden muß. Osmiumsäure wird ebenso wie Silbernitrat durch Melanin reduziert.

629. Die Vorstufe des Melanins läßt sich nach Bloch durch die von ihm angegebene Dioxyphenylalaninreaktion (Dopa, s. a. § 609) sichtbar machen.

630. Zur **Bleichung von Pigmenten** (wie auch von chromierten und osmierten Präparaten) wurde Wasserstoffsuperoxyd in 3—10%iger Lösung empfohlen (Unna 83, Solger 83). Dasselbe wirkt jedoch ziemlich stark mazerierend (P. Mayer 07, Fürst 96).

631. Die stärkste und sicherste Bleichung ohne tiefe Schädigung der Präparate läßt sich mit freiem **Chlor** nach P. Mayer (08 und 10) erzielen.

Man befeuchtet dazu einige Kristalle von Kaliumchlorat auf dem Boden eines gut verschließbaren Färbeglases mit etwas Salzsäure und füllt, wenn kräftige Chlorentwicklung eingetreten ist, vorsichtig mit 96%igem Alkohol auf, der sich durch das entstehende Chlorgas grün färbt. In diesen Chloralkohol stellt man die mit Eiweiß aufgeklebten Schnitte. Das Fortschreiten der Bleichung, die meist einige Stunden dauert, wird unter dem Mikroskop kontrolliert.

632. Man kann die Bleichung hier wie bei den folgenden Methoden auch am nichtentparaffinierten Schnitt vornehmen. Die Dauer des Vorganges wird dadurch zwar verlängert, die Schädigung des Schnittes jedoch vermindert.

633. Alfieri bleicht mit **Kaliumhypermanganat** 1 : 2000, bis das Pigment entfernt ist; hierauf kommen die Schnitte zur Entfernung des entstandenen Manganoxyds in 0,3%ige **Oxalsäure.** Sobald sie wieder weißlich sind, werden sie sorgfältig gewässert. Zu lange Einwirkung der Oxalsäure ist schädlich. Diese Methode wird auch zur Bleichung von Osmiumpräparaten viel benutzt (s. § 548).

634. Carazzi (09) nimmt eine 2,5%ige wässerige Lösung von **Natriumperborat** (im Handel unter dem Namen Oxylithe erhältlich), der etwas Zitronen- oder Weinsäure zugesetzt wird, wodurch die Sauerstoffentwicklung gesteigert wird. Bei alkoholischer (60—70%iger) Lösung ist dieser Zusatz unerläßlich. Das weiße Pulver läßt sich gut aufkleben. Die Schnitte bleichen ziemlich schnell, wenn das Präparat nach der Fixierung gut ausgewaschen wurde. Ihre Struktur und Färbbarkeit wird nur wenig beeinträchtigt.

Untersuchung der Allophoren.

635. Dieselben enthalten einen alkoholunlöslichen, gelb bis rot gefärbten Farbstoff. Im polarisierten Licht sind sie einfach brechend. Bei Dunkelfeldbeleuchtung ent-

stehen oft sehr farbenprächtige Bilder. Fundort: In der Haut von Knochenfischen (vgl. Ballowitz 13 a u. b), von Reptilien (Chamäleon, Eidechsen, Schlangen) und Amphibien (z. B. Rana fusca).

636. Zur Fixierung eignen sich besonders Alkohol und Sublimat. Stark saure Fixierungsflüssigkeiten können den Farbstoff angreifen. Durch Zerstörung gleichzeitig vorhandener Guanophoren mit Hilfe von Alkalien lassen sich die Allophoren stärker hervorheben. Ist das nicht möglich, so untersuche man guaninarme und -freie Stellen.

637. Neben Balsamtotalpräparaten kann man auch Schnittpräparate untersuchen (am besten ungefärbt, da die Allophorengranula künstliche Farbstoffe stark speichern können, wodurch die natürliche Farbe verdeckt wird). Ist man, wie bei Hautverknöcherungen, gezwungen zu entkalken, so gehen die Allophorenfarbstoffe meist zugrunde.

Untersuchung der Lipophoren.

638. Die meist sehr labilen Farbstoffe sind in Fetten und deren Lösungsmitteln löslich. Häufig sind sie sehr lichtempfindlich und bleichen rasch aus. Bei Zusatz von Schwefelsäure tritt ein Farbumschlag in Blau bis Blaugrün ein. Sie kommen in Fetten gelöst als kleine gefärbte Tröpfchen oder als winzige Körnchen und stäbchenförmige Kristalle (bzw. Kristallite) vor, die in polarisiertem Licht doppelbrechend sind.

639. Als Untersuchungsobjekt in überlebendem Zustand eignet sich besonders der Hinterrand der dachziegelig sich deckenden Bauchschilder unserer Eidechsen (Schmidt 17). Man biegt das Tier so, daß die Bauchseite vorgewölbt ist und die Schuppen sich voneinander spreizen. Dann schneidet man mit einer gekrümmten Schere den 0,5—1,0 mm breiten feinen Hinterrand der Schuppe ab, bringt sie — die Außenseite dem Deckglas zugekehrt — in phys. NaCl-Lösung und umrandet mit Wachs. Auch Gefrierschnitte von unfixiertem Material (Haut vom Frosch, Salamander, Mundschleimhaut junger Vögel) sind geeignet. Die Schwefelsäurereaktion ist an dünnen Hautstücken oder Gefrierschnitten auszuführen, wobei die Säure konzentriert und reichlich zugesetzt werden muß. Störende Guanophoren können ohne Schädigung der Lipophoren durch NaOH oder KOH gelöst werden.

640. Die Herstellung von Dauerpräparaten wird durch die Löslichkeit des Farbstoffes sehr erschwert. Am besten ist noch das Einlegen des frischen Objektes in Glyzerin. Nur bei einigen Lipophoren, z. B. Epidermis von erwachsenem Feuersalamander, in der Cutis von Triton-,

Salamander- und Froschlarven ist der körnig-kristallinische Farbstoff so widerstandsfähig, daß man kleine Stückchen in abs. Alkohol rasch entwässern und durch Zedernholzöl rasch in Balsam überführen kann.

Untersuchung der Guanophoren.

641. Die Guaninkristalle sind im polarisierten Licht doppelbrechend, was besonders zur Auffindung kleiner Mengen sehr wertvoll ist. Dabei ist aber zu beachten, daß ein Teil der Kristalle infolge Zusammenfallens der optischen Achsen dunkel bleiben kann. Beim Einschalten des Gipsplättchens Rot 1. Ordnung treten lebhafte Interferenzfarben auf. Für die Beobachtung bei Dunkelfeldbeleuchtung empfiehlt sich Einschluß in säurefreien Kanadabalsam.

642. Durch Säuren oder Alkalien wird das Guanin gelöst. Man fixiere also in Alkohol oder Sublimatgemischen. Auch in Formol können die Kristalle nach längerer Zeit verschwinden. Ferner werden sie von alaunhaltigen Farblösungen angegriffen. Ballowitz (14a) färbt mit schwacher, gut tingierender Hämatoxylinlösung (wohl Hämatein), Schmidt nimmt Delafieldsches Hämatoxylin. Zur Untersuchung von Kern und Protoplasma kann man das Guanin durch Einstellen der Schnitte in 5%iger Eisenalaunlösung entfernen.

I. Nachweis anorganischer Substanzen.

a) Eisennachweis.

643. Der Nachweis von **Eisen** soll möglichst an lebensfrischem Material erfolgen. Zur Fixierung nimmt man am besten abs. Alkohol; doch ist auch säurefreies Formol, zumal wenn es nicht zu lange einwirkt, verwendbar (Hueck 12). Auch eine Nachbehandlung des alkoholfixierten Materials mit Formol ist zulässig. Zu verwerfen ist dagegen Fixierung in Flüssigkeiten, die Schwermetalle wie Kupfer, Chrom u. dgl. enthalten. Sämtliche mit den Präparaten in Berührung kommende Flüssigkeiten sollen eisenfrei sein, insbesondere das zum Auswaschen benützte dest. Wasser. Die Gläser sind vorher durch sorgfältiges Putzen mit warmer Salzsäure, Wasser und Alkohol von Eisenspuren zu reinigen. Metallspatel, Eisennadeln u. dgl. sind durch solche aus Glas zu ersetzen. Am einfachsten arbeitet man mit

dem Gefriermikrotom, doch ist auch Paraffin und insbesonders Zelloidineinbettung möglich.

644. Die einzige absolut zuverlässige mikrochemische Reaktion auf Eisen ist nach Hueck die mit konzentriertem Schwefelammonium und Überführung des Schwefeleisens durch Ferrizyankaliumsalzsäure in **Turnbullblau** (Methode von Tirmann und Schmelzer).

Ausführung: Die Schnitte kommen aus dest. Wasser in konzentriertes, etwas gelb gefärbtes Schwefelammonium für 1—24 Stunden. Dann sorgfältiges Abspülen in dest. Wasser und Übertragen in eine frischbereitete Mischung von 20%iger Ferrizyankaliumlösung und 1%iger Salzsäure zu gleichen Teilen für 10—20 Minuten. Dann sorgfältiges Abspülen in dest. Wasser, Nachfärbung mit Parakarmin zur Darstellung der Kerne usw. Resultat: Das Eisen ist leuchtend blau gefärbt.

645. Die Schwefelammoniumlösung soll rein gelb gefärbt sein. Sie darf also nicht älter als 3 Wochen sein und nicht offen an der Luft gestanden haben, wobei sie bräunlich-gelb und unwirksam wird.

646. Weniger genau ist die Berlinerblaureaktion. Am besten führt man sie nach Wicklein-Falkenberg aus, indem man die Schnitte für 30—60 Minuten aus dest. Wasser in eine frisch hergestellte Mischung von 25 ccm 1%iger Salzsäure und 8—10 Tropfen einer frisch hergestellten 2%igen Ferrozyankaliumlösung bringt. Hierauf wird sehr sorgfältig mit dest. Wasser ausgewaschen und entweder mit Karmalaun oder Parakarmin (nicht Lithionkarmin) zur Darstellung der Kerne nachgefärbt.

647. Die Methoden von Perls, Hall, Quincke u. a. sind weniger zuverlässig.

648. Für den Nachweis **organischer oder maskierter Eisenverbindungen** gibt Macallum (12) folgende Methode an: 1. Herstellung des Reagens (saures Ammoniumsulfid). Man leitet in eine Ammoniaklösung (Dichte 0,96) so lange Schwefelwasserstoff, bis der Ammoniakgeruch verschwunden ist und H_2S-Geruch auftritt.

2. Ausführung der Reaktion: Ein Schnitt von alkoholfixiertem Material wird auf dem Objektträger in einem Tropfen Glyzerinwasser (dest. Wasser — chemisch reines Glyzerin āā) mit Glasnadeln fein zerzupft, bis die Zellen möglichst isoliert sind. Sodann setzt man einen Tropfen des Sulfidreagens zu, mischt und legt vollkommen eben ein Deckglas auf. Dann läßt man das Präparat einige Tage bis 2 Wochen im Thermostaten bei 60° C liegen.

Nach 2 Tagen beginnt an den Kernen Grünfärbung einzutreten, die sich allmählich zu Dunkelgrün verstärkt.

649. Schnitte bringt man auf 1—4 Tage bei 35—40° C in schwefelsauren Alkohol (abs. Alkohol 100,0; Schwefelsäure (spez. Gew. 1,84) 4,0). Vom 2. Tage ab ist der Eisennachweis möglich. Man wäscht dazu in dest. Wasser ab und bringt den Schnitt in eine frisch bereitete Mischung einer frischen 1,5%igen wässerigen Ferrozyankaliumlösung (1 Teil) und einer 0,5%igen Salzsäure (1 Teil). Nach 30 Minuten Waschen in dest. Wasser, abs. Alk., Xylol, Balsam. Eisen blau. Die Resultate dieser Methode sollen aber durch Methode § 648 kontrolliert werden.

Die Sicherheit der in § 648 und § 649 angegebenen Methoden wurde mehrfach angezweifelt [vgl. Zacharias (10), Hueck (12), Wiener (16)].

b) Nachweis von Kalium.

650. Macallum benützt dazu die Eigenschaft des Kobaltnitrits mit Kalium einen orangegelben Niederschlag zu geben. Herstellung des Reagens: 20 g Kobaltnitrit und 35 g chemisch reines Natriumnitrit werden in 75 ccm verdünnter Essigsäure (10 ccm Essigsäure auf 65 ccm dest. Wasser) gelöst. Nach einigen Stunden wird filtriert und auf 100 ccm aufgefüllt. Aufbewahren im Eisschrank.

Nachweis: Gefrierschnitte frischer Organe werden noch in gefrorenem Zustand (um eine Verlagerung des Kaliums durch Diffusion zu verhindern) in das Reagens gebracht. Man schneidet daher mit stark gekühltem Messer (möglichst unter 0°). Nach ½ bis mehreren Stunden wird das Reagens abgesaugt und durch eisgekühltes Wasser ersetzt, das nach etwa 3 Minuten erneuert wird. Dies wird in 20 Minuten 5—6mal wiederholt. Dann breitet man den Schnitt auf dem Objektträger flach aus. Da die orangerote Färbung in geringen Mengen schwer sichtbar ist, führt man sie in eine schwarze über. Man bedeckt dazu mit einem Tropfen Glyzerin-Ammoniumsulfid (s. § 648), Spermatozoen oder einzelne Zellen rührt man 30 Minuten mit dem dreifachen Volumen des Reagens an, dann mehrmaliges Auswaschen mit eisgekühltem Wasser (mit Hilfe der Zentrifuge oder auf Filtern mit Saugpumpe), Glyzerin-Ammoniumsulfid usw.

Auch gegen diese Reaktion Macallums wurden verschiedene Bedenken vorgebracht. (Vgl. Liesegang 14, 469.)

c) Nachweis von Calcium.

651. Methode von Grandis und Mainani (00), Ausführung an frischem oder alkoholfixiertem Material,

Gefrier- oder Paraffinschnitte. Färbung in gesättigter alkoholischer Purpurinlösung bis stark rotgefärbt (5—10 Minuten). Sodann in 0,75%ige Kochsalzlösung. Nach einigen Minuten wird in 70%igem Alkohol gewaschen, bis keine Farbe mehr abgeht. Dann abs. Alkohol, Xylol, Balsam. Calciumhaltiges Gewebe ist purpurrot gefärbt. Zum Nachweis von Ca im Zellprotoplasma ist die Methode nicht empfindlich genug.

652. Methode nach Kossa (01): Fixieren in Alkohol. Gefrier- oder Paraffinschnitte von unentkalktem oder nicht ganz entkalktem Material kommen aus dest. Wasser auf 10—60 Minuten bei starker Belichtung in 5%ige Silbernitratlösung. Auswaschen in dest. Wasser. Einige Minuten in 5%ige Natriumthiosulfatlösung (vorher ev. noch Einlegen in dünne Pyrogallussäurelösung). Sorgfältiges Auswaschen. Ev. Nachfärben mit Safranin. Abs. Alkohol usw. Kalk tiefschwarz. Empfindlichkeit wie bei § 651. Fehlerquellen durch Reaktion mit Fettsäuren oder mit Chloriden, Phosphaten, Sulfaten, Karbonaten anderer Basen möglich.

653. Für den Nachweis sehr kleiner Mengen hat Macallum folgende Methode ausgearbeitet: 1. Reagenzien: a) Schwefelsäurehaltiger Alkohol [2 ccm H_2SO_4 (spez. Gew. 1,84) und 100 ccm abs. Alkohol]; b) Bleiacetatlösung in $\frac{n}{10}$-Verdünnung; c) Lösung von Glyzerin-Ammoniumsulfid vgl. § 648.

2. Ausführung der Reaktion: Gefrierschnitte kommen wie in § 650 gefroren in das Reagens a). Nach 20 Minuten sorgfältiges Auswaschen in abs. Alkohol, dann in Reagens b). Nach 30 Minuten sehr sorgfältiges Waschen in dest. Wasser, dann Einlegen in Reagens c). Calciumhaltige Bestandteile schwarz gefärbt.

Unter Umständen kann man nach der Behandlung mit Bleiazetat 2—3 Minuten mit $\frac{n}{10}$-Salpetersäure waschen, um etwa vorhandenes Bleiphosphat zu entfernen. Dann Auswaschen usw. Auch hier muß mit der Möglichkeit von Fehlerquellen gerechnet werden.

654. Über Methoden zum Nachweis von Kupfer, Chlor, Jod, Phosphor, Schwefelsäure und Salzsäure siehe Macallum 12. Vgl. ferner § 1223.

14. Kapitel. Die Untersuchung von Epithelien und Endothelien.

655. Zur **frischen Untersuchung** werden die Epithelien durch leichtes Abschaben einer epithelbekleideten Oberfläche mittels eines scharfen Messers gewonnen. Zur Entnahme von Pflasterepithelien eignet sich u. a. die Zungenoberfläche. Zur Beobachtung der Flimmerepithelien dienen als klassische Objekte die Gaumenschleimhaut der Frösche oder die Kiemenplättchen der Muscheln, ferner die Lebergangzellen der Schnecken. Auch viele in der Harnblase und Kloake des Frosches anzutreffende Parasiten haben flimmernde Oberfläche. Die Epithelbewegung untersucht man am besten an explantierten Hornhautstückchen (vgl. Oppel 12c).

656. Als Untersuchungsflüssigkeit frischer Objekte dient physiologische Kochsalzlösung oder Ringerlösung (vgl. § 50). Durch Zusatz schwacher Säuren und Alkalien läßt sich der Einfluß auf die Flimmerung studieren [Kalilauge (1 : 1000 Wasser) wirkt z. B. erregend]. Will man die Flimmerbewegung zur besseren Beobachtung verlangsamen, dann setzt man zur Beobachtungsflüssigkeit etwas Gummilösung. In Zungen- oder Mundhöhlenabstrichen findet man neben Plattenepithelien und zahllosen Bakterien Speichelkörperchen, in deren Protoplasma häufig zahlreiche in Brownscher Molekularbewegung befindliche Körnchen eingelagert sind.

657. Um über die Form von Epithelzellen ins Klare zu kommen, ist es oft nötig, die einzelnen Epithelzellen zu isolieren. Dies geschieht durch Einlegen von lebensfrischen, nichtfixierten Epithelfetzen oder von Stücken epithelial ausgekleideter Organe (z. B. Darm, Trachea) in **Isolierungs-(Mazerations-)Flüssigkeiten.** Dabei soll die Flüssigkeitsmenge etwa dem gleichen oder höchstens doppelten Volumen des zu mazerierenden Organs entsprechen, da bei reichlicher Flüssigkeit die fixierende Wirkung oft überwiegt. Durch Einwirkung bei erhöhter Temperatur (37° C) läßt sich der Prozeß beschleunigen. Nach einer gewissen Zeit können die Zellen dann durch einfaches Schütteln, Klopfen oder Zupfen isoliert werden. Man untersucht in der Isolierungsflüssigkeit oder in Glyzerin, dem man unter Umständen auch etwas Farbstoff wie Eosin oder Pikrokarmin zusetzen kann.

658. Zu den besten **Isolationsmitteln** für Epithelien gehört der sog. **Drittelalkohol** von Ranvier (30 ccm 96%iger

Alkohol + 70 ccm Wasser). Nicht allzu große Stückchen eines frischen Epithels werden 12—24 Stunden in wenig Flüssigkeit eingelegt. Für gewöhnlich gelingt die Isolierung dann schon durch einfaches Schütteln oder durch leichtes Beklopfen der auf einen Objektträger gelegten Stückchen mit einer Zupfnadel. Die Zilien der Flimmerepithelien bleiben bei Einwirkung des Drittelalkohols erhalten. Auch eine nachträgliche Färbung ist möglich. Noch besser ist die Erhaltung der Flimmerzellen bei Mazeration in **stark verdünnter Müllerscher Flüssigkeit** (10 ccm auf 1000 Wasser), die man bis zu mehreren Wochen einwirken läßt (Kampferzusatz). Ewald (97) fixiert nach der Isolierung mit Drittelalkohol noch mit 0,5%iger Osmiumsäure und wäscht einige Male aus.

Weitere Isolationsmittel für Epithelien sind:

659. Osmiumsäure 1 : 1000. Man mazeriert kleine Stückchen 24 Stunden und länger, wäscht mit Wasser und zerzupft in Wasser oder in Glyzerin: ferner Jodserum nach M. Schultze (s. § 51).

660. Wässerige Chromsäurelösung 1 : 1000. Dauer der Einwirkung 24 Stunden bis Wochen. Thymol oder Kampferzusatz. Ebenso wirkt 0,5—1%ige Kalium- oder Ammoniumbichromatlösung.

661. In wenigen Stunden mazeriert 1—2%ige **Natriumfluoridlösung.** Für Epidermis, Linsenfasern, glatte Muskelzellen u. a. geeignet (Levi 04).

662. Zum **Auswaschen** von mazerierten Gewebsfragmenten läßt man in einem Spitzglas absetzen und hebert dann die über dem Bodensatz stehende Flüssigkeit mit einem Heber nach Mays ab. (Bei demselben ist der in die Flüssigkeit versenkte kürzere Heberschenkel am unteren Ende nochmals nach oben umgebogen und dann kurz über der Biegung abgeschnitten, so daß die Öffnung des Rohres nach oben gerichtet ist.) Mit einem derartigen Heber kann, zumal wenn man das Rohrlumen ziemlich eng nimmt, die Flüssigkeit fast bis zum letzten Tropfen abgehebert werden, ohne etwas vom Bodensatz mitzureißen.

663. Am einfachsten behandelt man aber vorher isolierte Zellen und Fasern mit einer **Zentrifuge,** mit deren Hilfe sich der ganze Prozeß des Auswaschens, Färbens, Entwässerns usw. ohne Materialverlust viel rascher und exakter durchführen läßt als beim einfachen Sedimentierungsverfahren. Natürlich muß man nach jedem Flüssigkeitswechsel den Bodensatz wieder gut aufschütteln.

664. Bei Beobachtnng frischer Epithelien oder Endothelien von der Fläche her sind die Zellgrenzen gar nicht oder nur sehr undeutlich sichtbar. Um diese hervortreten zu lassen, bedient man sich der sog. **Versilberungsmethode** (Ranvier 68 und 89).

Man spült dazu frische Membranen, Mesenterien, Perikardstücke, aufgeschnittene dünne Gefäße, aufgeblasene Lungenalveolen usw. kurze Zeit mit dest. Wasser ab, um etwa anhaftende Blut- und Eiweißflüssigkeit fortzuschwemmen, überträgt in eine 0,5%ige wässerige Silbernitratlösung und läßt die Stücke so lange darin, bis sie anfangen, undurchsichtig zu werden. Ist das eingetreten, so werden die Stücke in viel dest. Wasser übertragen und an einem von der Sonne beschienenen Orte so lange stehen gelassen, bis sich die Stücke zu bräunen beginnen. Daraufhin werden sie noch einige Male mit dest. Wasser tüchtig abgespült und entweder in Glyzerin od. dgl. untersucht oder allmählich in abs. Alkohol übertragen, wobei für eine geeignete Spannung der Membranen (z. B. Aufspannen mit Nadeln auf einem Kork) Sorge zu tragen ist. Xylol, Kanadabalsam. An solchen Stückchen erscheinen, wenn die Versilberung gelungen ist, die Zellgrenzen resp. die Kontaktflächen der Zellen schwarz, während Zelleib und Kerne gar nicht oder nur wenig imprägniert sind.

Eine nachträgliche Färbung der Kerne, etwa mit Parakarmin, Hämalaun od. dgl. ist zulässig. Sie wird am besten nach dem Behandeln mit Alkohol eingeschoben.

665. Achard und Aynaud führen die Schwärzung der Kittlinien auf das Vorhandensein von Kochsalz in den Kittsubstanzen zurück.

666. Die Zellgrenzen wurden an der Epidermis mit Silbernitrat 1844 zum ersten Male von C. Krause dargestellt und in einer Dissertation, die 1854 unter Coccius erschienen ist, hat Flinser darauf aufmerksam gemacht, daß nach der Ätzung des Hornhautepithels mit einem Höllensteinstift Niederschläge zwischen den Zellen entstehen.

667. Als Lösungsmittel für Silbernitrat kann statt des Wassers auch eine 0,5%ige Osmiumsäure (R. und O. Hertwig) oder eine 2—3%ige Salpetersäure genommen werden, wodurch gleichzeitig auch eine fixierende Wirkung ausgeübt wird. Man lasse die Flüssigkeit etwa eine Viertelstunde einwirken, wasche etwa eine halbe Stunde mit dest. Wasser ab, übertrage in 70%igem Alkohol, färbe ev. nach (Hämalaun oder Karmin) und überführe in Kanadabalsam nach bekannten Regeln.

668. O. Schultze (07) lässt eine 2%ige Silbernitratlösung mit 0,1% Osmiumsäuregehalt während 30 Minuten einwirken. Dann spült er kurz mit dest. Wasser ab und reduziert in vollem Sonnenlicht mit 1%iger Hydrochinon- oder Pyrogallussäurelösung. Man kann auch erst für 24 Stunden in eine 0,5%ige Osmiumsäure und dann ebensolange eine 2%ige Silbernitratlösung einwirken lassen. Dann abspülen und reduzieren wie oben.

669. Bei allen Versilberungsmethoden ist der Kontakt von gewöhnlichen Blechspateln, eisernen Nadeln, Pinzetten etc. mit Silberlösungen auf das sorgfältigste zu vermeiden. Man kann sich leicht mit improvisierten Instrumenten helfen, die man sich aus Holz, Horn, Borsten, Stacheln usw. zusammenfügt. Statt Nadeln benützt man Igelstacheln; zwei geeignet zugeschnittene Stückchen Horn oder Holz in der Verlängerung einer gewöhnlichen Pinzette festgebunden, ein Holzspatel oder Hornlöffel u. dgl. werden im allgemeinen genügen.

670. Das **Schlußleistennetz** stelle man nach § 358 dar.

671. Um **Interzellularbrücken** darzustellen, empfahl Kolossow (92): Feine Membranen, kleinste Gewebsstücke (auch vorher fixierte Stücke), kommen auf kurze Zeit (etwa ¼ Stunde) in eine ½—1%ige Osmiumsäure oder in Alkohol 50 ccm, Wasser 50 ccm, Acid. nitr. conc. 2 ccm, Osmiumsäure 1—2 g und dann in eine 10%ige wässerige Tanninlösung oder den sog. Entwickler: Wasser 450, 85%iger Alkohol 100, Glyzerin 50, Tannin puriss. 30, Pyrogallussäure 30. (Zur Darstellung des Entwicklers werden 30 g Tannin in 100 Wasser gelöst, nach 1 oder 2 Tagen wird filtriert, zum Filtrat gibt man 30 g Pyrogallussäure, die in 100 ccm Wasser gelöst sind, und darauf die übrige Quantität Wasser, den Alkohol und das Glyzerin). Im Entwickler verbleiben die Stücke einige Minuten, werden dann 5 Minuten in einer schwachen Osmiumsäure abgespült, Waschen mit destilliertem Wasser, Alkohol etc.

672. Bei einer späteren Methode spült Kolossow (98) die Blutgefäße der zu untersuchenden Organe mit 0,6%iger Kochsalzlösung aus und injiziert dann folgende Lösung: 0,5%ige wässerige Osmiumsäure 100 ccm; 0,5 bis 1 ccm einer 30%igen Salpetersäure; 1 ccm Eisessig; calium nitricum 10—12 g. Die nach kurzer Zeit (¼—½ Stunde) in kleine Stücke geschnittenen Organe kommen dann auf 16—24 Stunden in 0,5%ige Osmiumsäure und ebensolange in 10%ige Tanninlösung, die solange zu wechseln ist, bis die Schwärzung verschwindet. Wasser, 70%-, 85%-, 96%-iger und abs. Alkohol usw. Einbetten in Paraffin. Färbung nicht nötig.

673. Woronin (98) färbt Schnitte 10 Minuten oder länger in 1%iger Osmiumsäure, behandelt sie ebensolange mit gesättigter Tanninlösung, überträgt sie nochmals auf etwa 20 Minuten in 1%ige Osmiumsäure und wäscht längere Zeit mit abs. Alkohol.

674. Zur Darstellung von Zellgrenzen, Flimmerhaaren mit basalen Knötchensäumen und insbesondere auch von Protoplasmafasern der sog. Stachelzellen (Faserzellen) eignet sich sehr gut die Unnasche **Wasserblau-Orcein-Eosin-Färbung.** Fixierung in Orthscher Flüssigkeit, Pikrinsäuresublimat, Formolalkohol oder auch Formol. Zur Färbung benötigt man folgende Farblösungen: Lösung I: Wasserblau 1 g, Orzein 1 g, Eisessig 5 ccm, Glyzerin 20 ccm, 96%iger Alkohol 50 ccm, dest. Wasser 100 ccm. Lösung II: Eosin (alk. lösl.) 1 g, abs. Alkohol 80 ccm. Lösung III: Hydrochinon 1 g, dest. Wasser 100 ccm.

Zur Färbung der dünnen (5 μ), mit Eiweiß aufgeklebten Paraffinschnitte mischt man 10 ccm der Lösung I mit je 3 ccm der Lös. II. u. III. Nach 10 Minuten spült man in dest. Wasser ab, färbt 10 Minuten in 1%iger wässeriger Lösung von Safranin O (Grübler), spült in dest. Wasser ab und stellt für 10—30 Minuten in eine 0,5%ige wässerige Lösung von Kaliumbichromat. Sodann Abspülen in dest. Wasser, Alkohol, Toluol, Kanadabalsam. Die Schnitte sollen violett aussehen. Die verschiedenen Faserstrukturen färben sich dabei sehr scharf.

675. In Organen mit gemischtem Epithel (Pflaster- und Flimmer- oder Zylinderepithel) kann man die **Verteilung des Epithels** von der Oberfläche aus mit der Lupe nach folgender Methode von Zilliacus beurteilen: Man schneidet die Organe, wie Kehlkopf, Uterus usw., auf, fixiert sie nach sorgfältigem Reinigen in physiologischer Kochsalzlösung in natürlicher Lage 24 Stunden in: gesättigter Pikrinsäurelösung 1 Vol., gesättigter Sublimatlösung 1 Vol. und dest. Wasser 2 Vol.; aus diesem Gemisch genommen, werden die Stücke 1 Stunde in fließendem Wasser gewaschen und auf 2—3 Tage in eine gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung übertragen. Nach Abspülung des Präparates in gewöhnliehem Wasser wird es wenige Minuten (2′) in P. Mayerschem Hämalaun unter Kontrolle gefärbt. Zum Schluß spüle man, wenn nötig, mit 1%iger Sodalösung, dann wasche man usw. Das Plattenepithel erscheint gelb, das zylindrische grünschwarz.

15. Kapitel. Die Untersuchung des Blutes.

1. Die Blutentnahme.

676. Zur Blutentnahme benötigt man ein kleines, spitzes Messerchen, ev. eine Impflanzette. Noch einfacher ist es, eine Stahlschreibfeder zu nehmen, deren eine Spitzenhälfte abgebrochen ist (Pappenheim). Viel gebraucht, doch entbehrlich ist der Franckesche Schnepper. Man macht damit in die festgehaltene, durch leichte Stauung hyperämisch gemachte Fingerkuppe (oder in das Ohrläppchen) einen raschen, 2—3 mm tiefen Einstich. Sehr wichtig ist es, die betreffende Hautstelle vorher durch Waschen mit Seife und Abreiben mit Alkohol gründlich zu entfetten. Der erste herausquellende Blutstropfen wird abgewischt. Für jedes Präparat muß wieder ein frisch heraustretender Bluttropfen verwendet werden, während der Überrest des vorhergehenden Tropfens abgeputzt wird.

677. Objektträger wie Deckgläser müssen peinlich fettfrei gemacht werden (vgl. § 37a, § 777). Man reibt sie zuletzt noch mit Ätheralkohol ab und zieht sie einige Male durch die Flamme.

678. Bei höheren Wirbeltieren (Kaninchen, Meerschweinchen usw.) gewinnt man das Blut durch Anstechen einer Ohrvene, die man durch Anlegen einer einfachen Ligatur um die Ohrwurzel anschwellen läßt. Bei kleinen Tieren, Embryonen, Amphibienlarven usw. punktiert man das Herz mit einer feinen Glaskanüle, oder man nimmt das Herz heraus, wobei man mit einer Pinzette die Herzbasis abklemmt, schneidet die Herzspitze ab und verwendet das austretende Blut zum Ausstrich. Bei Mäusen gewinnt man das Blut ohne weitere Schädigung durch Abschneiden eines Schwanzstückes, bei Fischen durch Abschneiden von Flossen.

2. Untersuchung des frischen Präparates.

a) Rote Blutkörperchen.

679. Die roten Blutkörperchen können ohne weiteren Zusatz untersucht werden. Man tupft mit einem Deckgläschen die Kuppe eines Bluttropfens ab, legt es rasch auf einen Objektträger und umrandet mit einem in geschmolzenes Paraffin oder Wachs getauchten Pinsel, um einem Verdunsten der Blutflüssigkeit vorzubeugen. Hat man nicht genügend rasch verfahren, so treten mehr oder weniger starke Veränderungen ein (Stechapfel- oder Morgensternform, Keulenform).

680. Vermischt man den Bluttropfen mit etwas dest. Wasser, so blähen sich die Erythrozyten zunächst auf und geben dann ihren Farbstoff (Hämoglobin) ab. Sie werden dadurch immer blaßer und entziehen sich mehr und mehr der Beobachtung (Schatten). Setzt man dann eine 5%ige Lösung von Kal. chloric. zu, so schrumpfen sie stark zusammen und nehmen wieder Hämoglobin auf. Man vergesse nicht, auch Galle desselben Tieres zuzusetzen, namentlich weil man dabei eine direkte Lösung der Blutkörperchen beobachten kann: sie blähen sich auf und explodieren förmlich. Ähnlich wirkt Kochsalz (hypotonisch) oder schwefelsaures Natrium. Bei Zusatz verdünnter (z. B. 5%iger) Essigsäure blähen sie sich im Augenblick der Berührung stark auf, werden zunächst etwas dunkler, um dann rasch den Farbstoff abzugeben. Man benützt dies bei Zählungen der weißen Blutzellen, da die roten Blutkörperchen dabei unsichtbar werden, während die weißen um so deutlicher hervortreten.

681. Die Oberflächenschicht der Erythrozyten ist für Kochsalzlösung nicht durchgängig (daher Schrumpfung), wohl aber für Harnstoff. Die Erythrozyten sind weiter impermeabel für Natrium-, Kalium-, Baryum-, Strontium- etc. -Salze, ferner für Dextrose und Inosit. Permeabel sind sie für Ammoniumchlorid, Ammoniumazetat, Ammoniumoxalat, Methyl- und Äthylalkohol, Glyzerin, Azetamid, Biuret, Pyridin (Cohnstein 96).

682. Um den Randfaden von Amphibienerythrozyten (Salamandra atra oder maculosa) zu zeigen, setzt man zu einem frischen Bluttropfen etwas Gentiana- oder Methylviolett-Kochsalzlösung (0,25 g Farbstoff gelöst in 100 ccm einer 6,6%igen NaCl-Lösung) (Meves).

683. Bei einer von Arnold angegebenen Methode werden die Blutkörperchen gegen Austrocknung und mechanische Verletzung geschützt. Man sterilisiert dazu ganz dünne, mit dem Mikrotom geschnittene Scheibchen von getrocknetem Hollundermark durch Kochen in dest. Wasser und trocknet sie. Zur Untersuchung legt man ein derartiges Plättchen auf ein steriles Deckglas, beschickt es mit einem Bluttropfen und legt das Ganze mit dem Tropfen nach unten auf einen mit Vaseline umrandeten, hohlgeschliffenen Objektträger. Will man den Einfluß von Salzlösungen, Farbstoffen u. dgl. verfolgen, so befeuchtet man das Holunderblättchen vorher mit der betreffenden Flüssigkeit. Man kann schließlich auch das Ganze fixieren, einbetten usw.

684. Als **indifferente Beobachtungsflüssigkeit** zum Verdünnen des Blutes ist am besten Blutserum des gleichen Tieres. Weniger indifferent sind die in § 48—50 genannten Flüssigkeiten. Die Hayemsche Flüssigkeit (Sublimat 0,5 g + Kochsalz 1,5 g + schwefelsaures Natron 5 g + Wasser 200 ccm) vollends wirkt natürlich auch fixierend.

b) Weiße Blutzellen.

685. Die oben gegebenen Methoden gelten auch für **weiße Blutzellen.** Will man an ihnen Lebensäußerungen, wie amöboide Bewegungen usw. beobachten, so bedarf man bei Warmblütern eines heizbaren Objekttisches oder Mikroskopschrankes (s. § 85). Kaltblüterblut kann man dagegen bei Zimmertemperatur untersuchen. Man benützt dabei Objektträger und Deckgläser aus Quarz oder man überzieht nach Deetjen die Objektträgerfläche mit einer dünnen Schicht einer Agarlösung (s. § 687), worauf man den Bluttropfen und ein Deckglas aufsetzt und mit Wachs umrandet.

686. Um weiße Blutzellen zu gewinnen, bringt man sterile Holunderblättchen (s. § 684) in den Rückenlymphsack eines Frosches und vernäht die Wunde. Nach wenigen Stunden findet man sie voll von Leukozyten. Weitere Technik wie § 684.

687. Zur Herstellung der **Agarlösung** löst man 1 g pulv. Agar durch Kochen in 100 ccm Wasser, filtriert heiß und setzt zu 100 ccm Filtrat 0,6—0,9 g NaCl. Füllt man die Lösung in sterile, mit Wattebausch versehene Reagensröhrchen ab, so läßt sie sich 3—4 Wochen lang aufbewahren. Zum Gebrauch verflüssigt man das Agar durch Einstellen in kochendes Wasser.

688. Um die feinsten Protoplasmaausläufer zu sehen, arbeite man mit Dunkelfeldbeleuchtung (ein besonders günstiges Objekt sind die Hämolymphzellen des Flußkrebses).

c) Blutplättchen.

689. Die Blutplättchen verändern sich außerordentlich leicht; um sie zu untersuchen, bringt man einen Tropfen einer 1%igen Osmiumsäure auf die vorher gut gereinigte Haut und sticht dann unter dem Tropfen ein, so daß sich das Blut mit der Flüssigkeit mischt ohne vorher mit der Luft in Berührung zu kommen. Dann Abnehmen des Tropfens mit dem Deckglas usw.

690. Als **Auffangflüssigkeit** kann man auch 0,6- bis 0,9%ige Kochsalzlösung mit etwas Methylviolett (500 : 0,1) oder die Hayemsche Flüssigkeit (s. § 684) verwenden.

691. Um Blutplättchen in Menge zu gewinnen, läßt man nach Bürker einen großen Bluttropfen auf einen in Paraffin getauchten und hierauf wieder erkalteten Objektträger fallen und stellt ihn in einer mit angefeuchtetem Filtrierpapier ausgelegten Petrischale für 20 bis 30 Minuten in den Brutschrank. Der Tropfen gerinnt dabei nicht, die Blutkörperchen sinken zu Boden, während die spezifisch leichteren Blutplättchen sich oben sammeln und bei Betupfen der Tropfenkuppe mit einem Deckgläschen an diesem massenhaft kleben bleiben.

3. Herstellung des Ausstrichpräparates.

692. Die **Ausstrichpräparate** stellt man entweder auf Deckgläschen oder auf Objektträgern her. Bei **Herstellung eines Deckglaspräparates** bringt man einen kleinen Bluttropfen auf die Mitte eines Deckgläschens, läßt ein zweites in der in Fig. 6 gezeichneten Weise, also überkreuzt, daraufallen, und zieht sie kurz darauf unter Vermeidung jeglichen Druckes wieder anseinander. Die Deckgläschen hält man dabei an je einer Ecke mit den Fingerspitzen fest.

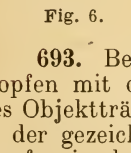


Fig. 6.

Fig. 7.

693. Bei **Objektträgerpräparaten** tupft man einen Bluttropfen mit der in der Fig. 7 mit × bezeichneten Stelle des Objektträgers *A* ab, setzt einen zweiten Objektträger *B* in der gezeichneten Weise derart auf, daß sich der Bluttropfen in dem Winkel *α* ausbreitet und schiebt nun den Objektträger *B* in der Richtung des Pfeiles (nicht umgekehrt!!) über den Objektträger *A* hinweg, wobei man den Bluttropfen in dünner Schicht über den ganzen Objektträger ausbreitet. (Der zum Ausziehen des Tropfens benützte Objektträger *B* besitzt am besten geschliffene Kanten; unbedingt nötig ist es jedoch nicht.)

694. In beiden Fällen müssen die Blutkörperchen schließlich in ganz dünner Schicht und eines möglichst isoliert vom andern über die Glasfläche ausgebreitet sein. Nach dem Ausstreichen läßt man sie, ev. unter Hin- und Herbewegen, möglichst rasch **lufttrocken** werden.

695. Bei gewissen Methoden werden die Ausstriche dagegen noch vor dem Lufttrockenwerden weiterbehandelt. Vgl. § 705.

4. Fixierung der Ausstrichpräparate.

a) Fixierung des lufttrockenen Ausstriches.

696. Am besten (besonders für Giemsafärbung) stellt man die lufttrockenen Ausstriche für 10 Minuten in abs. **Methylalkohol,** trocknet sie mit Filtrierpapier ab und läßt sie wieder lufttrocken werden. Bei May-Grünwald-präparaten ist eine Fixierung unnötig, da diese durch den in der Farbe enthaltenen Methylalkohol besorgt wird.

697. Statt in Methylalkohol (nach Nikiforoff auch statt § 698) kann man 1—2 Stunden in Äthylalkohol-Äther (āā und wasserfrei) fixieren. Auch Azeton kann man verwenden (5 Minuten). Nach der Fixierung läßt man wieder lufttrocken werden.

698. Für einzelne Färbungen (z. B. Triazidfärbung) wird der Ausstrich durch **Hitze** fixiert (Ehrlich). Man erhitzt dazu eine Kupferplatte durch eine darunter gestellte Bunsenflamme so stark, daß ein aufgetropfter Wassertropfen das Leidenfrostsche Phänomen zeigt. (Hin- und Herrollen in Kugelform.) An diese Stelle legt man das lufttrockene Deckglas für 5—30 Sekunden (meist genügen 7—10 Sekunden) mit der Schichtseite nach unten auf.

Die Dauer der Einwirkung ist von großem Einfluß auf die Güte der Färbung (es handelt sich dabei oft nur um Sekunden). Bei zu langer Einwirkung der Hitze bekommen die Granula zackige Form.

b) Fixierung des feuchten Ausstrichpräparates.

699. Gute Ergebnisse liefert die **Osmiumräucherung** nach Weidenreich, durch die besonders auch die Blutplättchen gut fixiert werden. Die gereinigten Objektträger werden für 1—2 Minuten über eine Glasschale gelegt, in die man 5 ccm einer 1% igen Osmiumsäure und 8 bis 10 Tropfen Eisessig gegeben hat. Das Ganze überdeckt man mit einer Glasglocke. Dann streicht man einen fri-

schen Bluttropfen auf der geräucherten Glasseite des Objektträgers aus und setzt die noch feuchte Blutschicht nochmals höchstens 1 Minute den Dämpfen aus. (Längere Einwirkung beeinträchtigt die Färbbarkeit.) Hierauf zieht man ihn 5mal durch eine Flamme. Vor der Färbung stellt man ihn 1 Minute in eine hellrote Lösung von übermangansaurem Kali, wäscht ab und färbt (besonders mit Giemsalösung s. § 717).

700. Die Räucherung kann man auch in einem mit eingeschliffenem Glasstopsel versehenen Glastubus vornehmen, an dessen Boden man etwas mit der Flüssigkeit befeuchtete Glaswolle geschoben hat.

701. Statt mit Osmiumdämpfen kann man auch mit Formoldämpfen fixieren, was besonders für Amphibienblut vorzuziehen ist (Weidenreich).

702. Die Blutzellen niederer Wirbeltiere fixiert man am besten nach Werzberg: Die lufttrockenen Ausstriche werden am folgenden Tag 1—2 Minuten durch die Dämpfe von folgendem Gemisch fixiert: 3 ccm **Jodtinktur** + 1 ccm **Formalin** + 10 Tropfen einer 2%igen **Osmiumsäurelösung** und **Eisessig** āā. Nach einem weiteren Tag wird gefärbt. Färbt man zu früh, so treten Farbinversionen auf. Zur Darstellung sehr zarter Elemente, z. B. von Spindelzellen, fixiert man die Ausstriche, solange sie noch feucht sind.

703. Um die Form der weißen Blutzellen, die bei gewöhnlichen Ausstrichen sehr oft beschädigt wird, gut zu erhalten, empfiehlt sich folgende Methode Weidenreichs: Zunächst gießt man eine nach § 687 bereitete und durch Einstellen in kochendes Wasser verflüssigte Agarlösung in nicht zu dünner Schicht auf einer reinen horizontal stehenden Glasplatte aus. Nach Erstarren (nicht Trocknen!) schneidet man vierseitige Plättchen aus, die kleiner als das später zu benützende Deckglas sind. Mehrere derselben bringt man dann in Abständen auf eine Glasplatte. Dann tupft man mit einem sorgfältig gereinigten, durch die Flamme gezogenen Deckglas einen nicht zu großen Bluttropfen ab und legt ihn ohne Druck und Schub auf das Agarplättchen auf. Nach 5—10 Minuten, während welcher man, falls man Bewegungsstudien machen will, die Glasplatte in den Brutofen stellt (37° C), gibt man, ohne das Deckglas zu berühren, einige Tropfen einer 1%igen Osmiumsäure von der Seite her unter das Deckglas, so daß der freigebliebene Rand zwischen Glas und Agar völlig ausgefüllt wird. Nach etwa 5 Minuten hebt man das Deckgläschen vom Agar ab, spült mit Wasser ab und färbt die an ihm haftengebliebene Blutschicht (am besten nach Giemsa).

704. Bei der Färbung der fixierten feuchten Ausstriche fallen die Farbtöne häufig etwas anders aus, als bei typisch vorbehandelten lufttrockenen Ausstrichen.

705. Eine weitere Methode ist, die noch feuchten Ausstriche (besonders von Organen wie Milz, Knochenmark) für kurze Zeit (ca. 10 Minuten in eine der bekannten Fixierungsflüssigkeiten (hier besonders nach Helly, Maximow und Orth, oder in Sublimat) einzustellen. Dann wird gut ausgewaschen und ohne vorheriges Trocknen gefärbt. Oft ist es gut, die Präparate vor dem Färben noch in 80—90%igen Alkohol zu bringen (ev. auch Sublimatentfernung nach § 175 u. 176).

5. Die Färbung des Ausstrichpräparates.

706. Praktisch am wichtigsten ist die Färbung nach May-Grünwald (oder Jenner), Giemsa und besonders die Kombination beider Färbungen nach Pappenheim.

Allgemeine Bemerkungen zur Ausführung der Färbung.

707. Die Blutfärbungen werden **bei Objektträgerausstrichen** in der Regel so vorgenommen, daß der flach in einer Petrischale liegende Objektträger mit der Farblösung in 1—2 mm hoher Schicht überschichtet wird, wobei man sorgfältig ein Herabfließen der Flüssigkeit über die Ränder des Objektträgers vermeidet. Färbt man mehrere Präparate zugleich, so färbt man am besten im Färbetrog nach M. Mayer (s. Lautenschläger, Katalog 100 Nr. 5882). Das Einschließen in eine Petrischale usw. ist nötig, um ein Verdunsten und eine dadurch eintretende Farbstoffausfällung zu vermeiden.

708. Deckglaspräparate legt man mit der Schichtseite nach abwärts in ein Uhrgläschen oder Blockschälchen und unterschichtet mit Farblösung, bis die Flüssigkeit die Unterfläche des Deckgläschens benetzt. Man kann sie auch einfach auf der Flüssigkeit schwimmen lassen.

709. Das zum Verdünnen der Farblösungen und Auswaschen der Präparate benutzte dest. Wasser muß absolut rein und säurefrei sein. Das dest. Wasser darf bei Silbernitratzusatz keine Opaleszenz, bei Phenolphthaleinzusatz keine Rotfärbung zeigen. Für manche Färbungen (z. B. Giemsa, s. § 710) ist ein ganz geringer Alkaleszenzgrad vorteilhaft.

710. Giemsa prüft das zur Herstellung reiner Farblösung verwendete dest. Wasser, indem er in 10 ccm davon einige Tropfen einer frisch bereiteten Lösung von einigen Körnchen Hämatoxylin in abs. Alkohol gibt. Es soll sich in fünf Minuten, nicht aber vor Ablauf 1 Minute, schwach aber deutlich violett färben. Bleibt es farblos, so setzt man dem Wasservorrat solange tropfenweise 1%ige Natriumkarbonatlösung zu, bis die Reaktion in einer neuen Probe in der angegebenen Weise erfolgt.

711. Zum Abmessen der Mengen beim Verdünnen der Farblösungen benötigt man dringend graduierte Glaspipetten von 1 ccm Inhalt; denn nur dann lassen sich annähernd gleichgroße Tropfen erhalten. Am besten hält man sich überhaupt an exakte Maßzahlen, da sich die Tropfengröße natürlich auch je nach der Größe der Ausflußöffnung ändert. Absolut zu verwerfen ist das zwar häufig geübte, aber sehr ungenaue und unsaubere direkte Heraustropfen der Lösung aus der Flasche.

712. Die Pipetten müssen nach Gebrauch gleich wieder mit dest. Wasser, 96%igem Alkohol und dest. Wasser mehrmals ausgespritzt werden. Mißt man die Farblösung im Meßzylinder ab, so stellt man die Verdünnung nicht durch Nachgießen von dest. Wasser in den gleichen Zylinder her, sondern schüttet die in getrennten Zylindern abgemessenen Mengen in ein gesondertes Gefäß zusammen. Dazu benützt man keine engen Reagensröhrchen, sondern etwa 2—3 cm weite Glaszylinder (z. B. Färbegläser wie Fig. 4, S. 80). Die Lösung wird rasch in das dest. Wasser geträufelt und der Zylinder herumgeschwenkt, bis beide Flüssigkeiten homogen durchmischt sind, nicht länger, da sonst der Farbstoff leicht ausgefällt wird.

713. Nach der Färbung werden die Präparate meist mit Filtrierpapier abgetrocknet; sind sie dann nach einigen Minuten lufttrocken, dann bedeckt man sie zur Untersuchung entweder gleich direkt mit einem Tropfen Immersionsöl, das man nach Beendigung gleich wieder mit einem weichen Leinen und etwas Toluol wegwischt, oder man tropft Kanadabalsam auf und bedeckt mit einem Deckglas. Der zum Eindecken benutzte Kanadabalsam muß neutral sein, da sonst die Färbungen rasch verblassen. Hat man keinen solchen zur Verfügung, so ist es besser, die Präparate uneingedeckt aufzuheben.

Spezielle Methoden.

714. Färbung nach May-Grünwald oder Jenner mit eosinsaurem Methylenblau: 1. Die frisch hergestellten, lufttrockenen Ausstriche kommen zur Fixierung für 3 Minuten

in die unverdünnte Farblösung. 2. Zusatz der gleichen Menge dest. Wasser und Fortsetzung der Färbung für 5 bis 15 Minuten. Erst in dieser Lösung findet die eigentliche Färbung statt; das Präparat muß darin einen rötlichen Ton annehmen. 3. Abgießen der Lösung, ganz kurzes Eintauchen in dest. Wasser. Trocknen zwischen Filtrierpapier.

Resultat: Kerne blau, eosinophile (α-) Granula leuchtend ziegelrot, basophile (γ-) Granula tiefblau, neutrophile (ε-) Granula: feine hellrote bis purpurrote Körnchen. Blutplättchen: blaßblau; Erythrozyten: hellrot.

Die Färbung gelingt am besten mit ganz frisch hergestellten Ausstrichen. Ältere fixiert man etwa ½ Stunde mit Methylalkohol oder einige Stunden mit Äther-Alkohol.

715. Der bei dieser Methode wirkende Farbstoff stellt eine in Methylalkohol gesättigt gelöste, leicht dissoziierbare chemische Verbindung des eosinsauren Methylenblaus dar, die bei Mischung einer 1‰igen Lösung von Eosin und 1‰igen Lösung von Methylenblau medic. entsteht. Von einer Selbstherstellung des Farbstoffes ist jedoch abzusehen, man bezieht ihn am besten von Grübler. Vorteilhaft hält man sich die Farbe in Tablettenform vorrätig und löst kurz vor Gebrauch eine fein zerriebene Tablette in 10 ccm reinsten Methylalkohol.

716. Aßmann modifiziert die Färbung wie folgt: 1. Auftropfen von 40 Tropfen der Farblösung auf den frisch hergestellten, unfixierten, in einer Petrischale liegenden Objektträgerausstrich ½ Minute. 2. Übergießen mit 20 ccm dest. Wassers, dem 5 Tropfen einer Kaliumkarbonatlösung (Pottasche) 1 : 1000 zugesetzt wurden. 1 Minute. 3. Kurz Eintauchen in dest. Wasser, Abtrocknen.

717. Färbung nach Giemsa (Romanowsky): 1. Fixieren des frischen, lufttrockenen Präparates in Methylalkohol 3 Minuten (wenn älter 2 Minuten) oder in abs. Alkohol oder Äther-Alkohol 20 Minuten. 2. Färben in einer frisch hergestellten Verdünnung (s. u.) der Giemsa-Lösung, 15 Minuten oder länger. 3. Gründliches Wässern in fließendem Wasser (5 Minuten). 4. Abtrocknen mit Fließpapier (nicht durch Erwärmen, da dadurch die Azurgranula zerstört werden). 5. Einschluß in Kanadabalsam oder Zedernöl.

Resultat: Kerne violettblau; eosinophile Granula rot; neutrophile: rotviolett; basophile: blau bis blauviolett; Protoplasma der Lymphozyten blau, ev. mit feinen purpurroten Granula: Azurkörnchen, Erythrozyten rötlich, Kerne von Protozoen leuchtend rot, Blutplättchen blau mit violettrotem Innenkörper.

718. Die Verdünnung der Farblösung erfolgt in der Weise, daß man 15 Tropfen = 0,3 ccm Stammlösung (neue Vorschrift) mit 10 ccm dest. Wassers verdünnt (vgl. auch § 711 f.) Bei der Lösung nach alter Vorschrift werden 10 Tropfen = 0,2 ccm mit 10 ccm dest. Wasser verdünnt. Fällt der Farbstoff kurz nach der Herstellung der Verdünnung aus, so ist die Lösung unbrauchbar.

719. Die Giemsalösung enthält Methylenazur, Methylenblau und Eosin. Man bezieht sie am besten gebrauchsfertig von Grübler. Der zusammengesetzte Farbstoff ist bei Grübler auch trocken in Kapseln erhältlich. Zur Lösung schüttet man den Inhalt einer Kapsel (für 100 ccm Stammlösung) in einen reinen Glaskolben, der 80 ccm Methylalkohol (puriss. Kahlbaum I) und 20 ccm Glyzerin (puriss. Merck) enthält und erwärmt den Kolben unter öfterem Umschütteln im Wasserbad (oder Thermostat) auf 60° C. Nach dem Erkalten wird durch ein trockenes Filter in eine reine trockene, gut verschließbare Flasche filtriert.

720. Ausgezeichnete Resultate gibt die von Pappenheim empfohlene **Kombination der May-Grünwald- und Giemsa-Methode (Panoptische Färbung):**

1. Fixieren des frischen lufttrockenen Ausstriches durch darüber geschichtete May-Grünwald-Lösung 3 Minuten. 2. Zufügen der gleichen Menge dest. Wassers 1 Minute. 3. Abgießen, nicht Abspülen der verdünnten Farblösung und Zufügen der verdünnten Giemsa-Lösung (15 Tr. = 0,3 ccm auf 10 ccm dest. Wassers). Färbung 12—15 Minuten. 4. Kräftiges Abspülen in dest. Wasser, Trocknen zwischen Filtrierpapier. 5. Einlegen in neutralem Balsam.

Resultat: Kerne rötlichviolett, Plasma der lymphoiden Zellen lichtblau; lymphoide Azurkörnung leuchtend purpurrot, myeloische Azurkörnung violett mit einem Stich ins Violettbräunliche, Neutralkörnung: bräunlich bis bläulichrosa, eosinophile: bräunlichorange bis ziegelrot; Mastkörnung: ultramarin mit Stich ins Violette. Polychrome Formen der Erythrozyten überwiegend bläulich, basophile Punktierung der Erythrozyten: kräftig kobaltblau.

721. Ganz ähnlich ist die Ausführung der von Pappenheim (11) angegebenen Färbung mit »**Panchrom**«, nur färbt man bei Nr. 3 statt mit verdünnter Giemsalösung 15 Minuten mit verdünnter Panchromlösung (15 Tropfen = 0,3 ccm) auf 10 ccm dest. Wasser). Über Schnittfärbung mit panoptischem Gemisch und Panchrom s. § 446 u. 448.

722. Sehr gute Resultate gibt auch die Färbung nach **Kardos-Pappenheim.** Nr. 1 u. 2 wie in § 720, dann 3. Ab-

gießen der Farblösung und Färben mit fertiger käuflicher Pappenheim-Kardoslösung (Grübler) 15 Minuten. Kurzes Abspülen in Wasser, Trocknen, Einbetten. Bei Schnittfärbung färbt man die nach Orth oder Helly fixierten, paraffinbefreiten Schnitte 1—2 Stunden bei 37° zugedeckt in der Pappenheim-Kardoslösung, spült dann in dest. Wasser ab und trocknet mit Fließpapier ab, entwässert kurz in abs. Alkohol, dann Xylol und Balsam.

Resultat: Die Färbung gibt ausgezeichnete Differenzierung zwischen Mastzellen, Eosinophilen, Lymphozyten, Bindegewebszellen und Bindegewebe. Die Kerne sind violettrot. Azurkörnung der lymphoiden Zellen: purpurrot; neutrophile Körnung bräunlichviolett, und zwar kräftiger und distinkter als sonst bei Giemsa; das Paraplasma der fertig differenzierten polynukleären Neutrophilen diffus rosa. Paraplasma der Lymphozyten, Monozyten und Leukoblasten hellblau, Spongioplasma scharfblau strukturiert.

723. Mitunter entsteht Azurpräzipitation durch Farbstoffniederschlag, die mit echter Azurgranulation verwechselt werden könnte. Taucht man die völlig trockenen Präparate vor dem Eindecken erst noch kurz in abs. Alkohol, so löst sich die erstere.

724. Die von Kardos angegebene länger haltbare Farbmischung (nach Pappenheim-Kardos) besteht aus verdünnter Giemsalösung und einer Methylgrün-Orangelösung, und zwar: 10 Tropfen G.-L. = 0,14 ccm + 5 Tropfen M.-O. = 0,10 ccm + 15 ccm Wasser. Nach der Mischung muß die Lösung kräftig umgeschüttelt und vom malvefarbigen Schaum abgegossen werden. Die Methylgrün-Orangelösung wird so hergestellt, daß das Präzipitat, das bei Vereinigung einer 2%igen wässerigen Orange-G-Lösung mit konz. wässeriger Methylgrünlösung entsteht, auf dem Filter gesammelt, getrocknet und in Methylalkohol aufgenommen wird (als Methylgrün-Orangelösung nach Pappenheim, ebenso wie die fertige Kardosmischung bei Grübler erhältlich).

Außer diesen vielseitigen, allgemein orientierenden Methoden seien zur Darstellung spezieller Strukturen noch folgende angeführt:

725. Zur Trennung von α- und β-Granulationen (in eosinophilen und pseudoeosinophilen Leukozyten), welch letztere besonders in Blutzellen von Kaninchen und Meerschweinchen vorkommen (vgl. u. a. Furno 11, Benacchio 11), färbt man die hitzefixierten Ausstriche mit dem Ehrlichschen **Triglyzeringemisch:** Eosin 2 g, Indulin 2 g, Aurantia 2 g, Glyzerin 30 ccm. Dasselbe wird vor der Färbung auf 60° C erwärmt, dann wird 24 Stunden bei

37° C gefärbt, mit Wasser abgespült und getrocknet. Resultat: Kerne schwarz, eosinophile (α-) Granula gelb, Spezial-(β-)Granula dunkelrot, basophile Granula dunkelgrauschwarz.

726. Die **γ-Granulationen** (Mastzellen) lösen sich leicht in Wasser, nicht in starkem Alkohol. Man färbt sie nach Ehrlich mit einer gesättigten Lösung von Dahlia in: Eisessig 12,5 + abs. Alkohol 50,0 + dest. Wasser 100,0. Zur Darstellung in Schnitten wird das Objekt mindestens 24 Stunden in abs. Alkohol fixiert.

727. Über die Färbung in Schnitten sowie Unterscheidung von Plasmazellen s. § 744.

728. Zur Darstellung der **δ-Granulationen** (sehr feine basophile Granulationen in Monozyten) färbt man 10 bis 20 Minuten in gesättigter wässeriger Methylenblaulösung. Abspülen in Wasser. Trocknen. Ebenso zum Nachweis **basophiler Punktierungen** der Erythrozyten.

729. Die **ε-Granulationen** (neutrophile Leukozyten) lassen sich am besten mit dem **Triazidgemisch** von Ehrlich-Biondi darstellen. Man fixiert am besten in der Hitze (§ 698) und färbt mit der von Grübler zu beziehenden oder nach § 436 hergestellten Farblösung, indem man sie mit einer Pipette auf den Ausstrich schichtet. Nach 5 bis 10 Minuten Abspülen mit dest. Wasser, bis keine Farbwolken mehr abgehen. Trocknen zwischen Filtrierpapier.

Resultat: Kerne grün (meist unscharf), eosinophile Granula: leuchtend kupferrot, neutrophile: violettrot; basophile ungefärbt, ebenso Protoplasma der Lymphozyten. Erythrozyten orange.

730. Ein von Pappenheim angegebenes Triazid (02) enthält noch Methylenblau zur besseren Kernfärbung. Anwendung wie vorausgehend.

731. Um die **Plastosomen** (Mitochondrien) in Ausstrichpräparaten darzustellen, fixiert Schridde dünne, feuchte Ausstriche in Orthschem Gemisch (1—2 Stunden), spült mit dest. Wasser ab und legt 30 Minuten in 0,5%ige Osmiumsäure. Dann kurz abspülen, färben und differenzieren nach Altmann, s. § 537. Noch besser gelingen die Methoden nach Benda, Meves, Regaud oder Kiyono auf feuchte Ausstriche angewandt.

732. Zur Unterscheidung von **Spongioplasma** und **Paraplasma,** ferner von **Lymphozyten** und **Spindelzellen** niederer Tiere wendet Pappenheim (10) eine Kombination der Farblösungen von Unna und Ziehl an (s. auch Werzberg 11). Fixation: Hitze (7—10 Sekunden) oder Dampfgemisch nach

§ 702, sodann abs. Alkohol + Methylalkohol āā (ca. 15 Minuten). Zur Färbung gibt man auf 10 ccm dest. Wasser 8 bis 10 Tropfen polychromes Methylenblau-Unna (s. § 744) und 8 Tropfen Karbolfuchsin. Färbedauer 5—8 Minuten. Häufiges Abspülen in dest. Wasser. Trocknen. Einbetten.

Resultat: Kerne blau, alle Plasmas, auch Spindelzellen, rot, nur Lymphozyten und Großlymphozyten infolge ihres hohen Spongioplasmagehaltes blau.

733. Herstellung von **Karbolfuchsin:** Fuchsin 1 g, abs. Alkohol 10 ccm, 5%iges Karbolwasser 100 ccm.

734. Aus einer Mischung von Pikrinsäure und einem anderen sauren Farbstoff färben sich die Erythrozyten besonders mit Pikrinsäure.

Zur Sichtbarmachung des Hämoglobins in blutbildenden Zellen dient Eosin.

735. In nachfolgender Tabelle sind die häufigsten Methoden übersichtlich zusammengestellt. Die bei Anwendung derselben besonders deutlich hervortretenden Zellbestandteile sind durch Fettdruck hervorgehoben.

B. Herstellung von Schnittpräparaten.

736. Zur **Fixierung** von Organstückchen und Embryonen eignet sich bei hämatologischen Untersuchungen besonders das Orthsche Gemisch (90 ccm Müllersche Flüssigkeit + 10 ccm Formol) und die Zenkersche Flüssigkeit, nur daß man bei der letzteren auf 100 ccm Flüssigkeit statt Eisessig nach der Modifikation von Helly-Maximow 10 ccm Formol zusetzt. Der Formolzusatz darf erst unmittelbar vor Gebrauch der Lösung erfolgen. Zur Fixierung von Warmblütergewebe empfiehlt Maximow (09) die Fixierungsflüssigkeit auf 37° C zu erwärmen, dann Formol zuzugeben und die frischen lebenswarmen Objekte rasch in die Lösung zu bringen. Nach einer halben Stunde läßt man die Lösung wieder abkühlen. Dünne Keimscheiben präpariert man vorher in körperwarmer Ringerlösung mit Schere und Pinsel vorsichtig ab, schiebt sie auf die Konvexität eines Uhrglases und bringt sie durch Aufträufeln von etwas Fixierungsflüssigkeit während ein paar Sekunden in aufgespannter, faltenloser Lage zur Erstarrung. Dann werden sie in der Fixierungsflüssigkeit durch leichtes Schwenken des Glases von demselben losgelöst. Die Organstückchen dürfen nicht zu groß sein. Bei Embryonen über 1,5 cm Länge muß die Hautdecke geöffnet werden. Dauer der Fixierung bei Keimscheiben u. dgl. 10—15 Minuten, Embryonen bis zu 3 mm 1 Stunde, größer bis zu 6 Stunden. Sodann 24stündiges Auswaschen in fließendem Wasser,

Färbemethoden	Kern	α-Gran. (eosinophile Leukoz.)	β-Gran. Spezialzellen	γ-Gran. basoph. Mastzell.	δ-Gran. feingran. basoph. Zellen	ε-Gran. neutroph. Leukoz.	Azur-Granul.	Protoplasma		Erythrozyten	Thrombozyten
								Lymphozyten	Leukoz.		
Eosinsaures Methylenblau (May Grünwald, Jenner § 714	blaßblau	leuchtend ziegelrot	leuchtend ziegelrot	dunkelblau	dunkelblau	violettrot (unscharf)	—	schwach blau	blaßblau	hellrot	blaßblau
Giemsa-Färbung § 717	rotviolett	rot	rot	violettblau	violettblau	braunrot	purpurrot	blau	rötlich	rötlich	blau mit rotviol. Innenkörper
Panoptisches Gemisch nach Pappenheim und ganz ähnlich das Panchrom-Gemisch § 720 und § 721	scharf rotviolett	rot	rot	violettblau	violettblau	scharf braunrotviolett	purpurrot	blau	rötlich	rosarot	blau mit rotviolettem Innenkörper
Kardos-Gemisch nach § 722	scharf rotviolett	rot	rot	violettblau	violettblau	scharf rotbraun mit viol. Stich	purpurrot	blau	rötlich	rosarot	blau mit rotviol. Innenkörper
Triacid nach § 729	grün (unscharf)	leucht. kupferrot	kräftig rot	—	—	violettrot	—	—	—	orange	—
Triglycerin nach § 725	schwarz bis grau	gelb	dunkelrot	schwarz bis dunkelgrau	unscharf grau	rot	—	schwach gelblich	schwach gelblich	—	—
Methylenblau	blau	—	—	scharf blau	scharf blau	—	—	—	—	ev. basophile Punktierung	—

Jodbehandlung zur Entfernung des Sublimats nach § 174. Einbettung in Zelloidin oder Zelloidinparaffin.

737. Sehr gute Resultate gibt auch die von Maximow angegebene Flüssigkeit (Zenkersche Flüssigkeit mit Zusatz von Formol-Osmiumsäure s. § 186).

738. Das **Hämoglobin** wird durch die angeführten Flüssigkeiten in den Blutzellen gut fixiert. Auch Sublimat-Kochsalzlösung (nicht Sublimatwasser) wird dazu empfohlen. Durch Zusatz von Eisessig oder Trichloressigsäure wird es dagegen angegriffen.

739. Zur **Färbung** der Schnittpräparate eignen sich besonders die Methoden von Dominici mit Orange-Eosin-Toluidinblau (s. § 440), von Maximow mit Azur-Eosin (s. § 442), von Pappenheim (Panchrom § 448), panoptisches Gemisch § 446), nach Kardos (§ 722), mit Triazid (§ 436) und nach Giemsa (vgl. § 445 und nachfolgende).

740. Schridde verdünnt zur Schnittfärbung mit Giemsalösung 20 Tropfen (= 0,4 ccm) der Stammlösung mit 10 ccm dest. Wasser (über die Ausführung vgl. § 718) und färbt 20 Minuten bis 24 Stunden. Ev. muß man nach etwa einer halben Stunde die Farblösung nochmals erneuern. Hierauf wäscht man sorgfältig in Brunnenwasser aus, trocknet mit Filtrierpapier ab und bringt durch reinstes Azeton (Kahlbaum), in dem keine Farbwolken abgehen dürfen, in Xylol und Balsam. Das Azeton muß völlig säurefrei sein, allenfalls setzt man ein paar Tropfen Kaliumkarbonat zu. Schmorl schüttelt zur Reinigung das Azeton mit einer konz. wässerigen Lösung von Kalium acetic. gut durch und läßt absetzen.

741. Mit der Schultze-Winklerschen **α-Naphthol-Oxydase-Reaktion** lassen sich in Myeloblasten und Myelozyten Granulationen darstellen, während Lymphoblasten und Lymphozyten davon frei sind. Je nach Fixierung und Ausführung der Färbemethode färben sich die α-, β-, γ- oder ε-Granula, und zwar geben I. die Methoden A von Schultze und die Methode von Loele an α-Zellen starke, an neutrophilen schwache partielle und inkonstante, an amphooxyphilen Zellen keine Reaktion, II. die Methode B von Schultze und die von Giercke auch an neutrophilen und amphooxyphilen Granulationen starke Reaktion. Bei starker Formolisierung tritt bei den zwei letzten Methoden eine Differenz der Oxydasefärbung dieser Zellgranula ein (α-Granula blau, die übrigen braun). Alle Oxydasereaktionen färben auf alle Fälle die α-Granula. (Weiteres bei Pappenheim und Nakano 13.) Vergl. auch § 605 ff.

742. Auch mit der »Dopa«-Reaktion (vgl. § 609) färben sich die Granula des myeloischen Systems.

743. Bei vitaler Karmin- oder Trypanblau-Injektion treten nach Asschoff (13) und Kyiono (14) im Blute rot bzw. blau granulierte mononukleäre Zellen auf, Histiozyten, welche sich hauptsächlich aus losgelösten Retikuloendothelien von Milz, Leber, Knochenmark und Lymphdrüsen rekrutieren (dagegen Pappenheim 13c und Netoušek 14).

744. Zur Darstellung der **Plasma- und Mastzellen** fixiert man am besten in abs. Alkohol (auch das Orthsche Gemisch oder Formol ist möglich) und färbt die Zelloidin- oder Paraffinschnitte 10 Minuten in polychromem Methylenblau von Unna. Dann spült man 2—3 Minuten in dest. Wasser ab und differenziert ½ bis mehrere Minuten in der Glyzerinäthermischung von Unna, die man dazu mit 4 Teilen dest. Wasser verdünnt, bis der Schnitt kornblumenblau erscheint. Nach 5 Minuten langem Auswaschen in Wasser Abtrocknen mit Fließpapier, kurz in abs. Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. Die Granula der Mastzellen sind rot, die der Plasmazellen blau, ebenso die Kerne.

745. Auch bei Anwendung der Pappenheim-Unnaschen **Methylgrün-Pyroninfärbung** (vgl. § 434) treten die Plasmazellen durch ihr tiefrotgefärbtes Protoplasma und den blaugrüngefärbten »Radkern« deutlich hervor.

C. Darstellung von Fibrin.

746. Fibrinfärbung nach Weigert. Fixierung in abs. Alkohol, doch ist auch Sublimat oder Formol möglich. Bei Fixierung in chromhaltigen Flüssigkeiten müssen die Schnitte vor der Färbung auf 2—3 Stunden in 5%ige Oxalsäure und hierauf ca. ½ Stunde in eine 0,3%ige Lösung von übermangansaurem Kali gestellt werden.

Färbung: 1. Die aufgeklebten Paraffinschnitte kommen nach Entfernung des Paraffins auf mindestens 10 Minuten in konz. Anilinwasser-Gentianaviolettlösung (s. § 407).

2. Flüchtiges Abspülen in 0,6%iger Kochsalzlösung oder in Wasser.

3. Einstellen für 10 Minuten in Jod-Jodkalilösung (1 : 2 : 300).

4. Abtrocknen mit einer mehrfachen Lage von Fließpapier.

5. Differenzieren in einer Anilinöl-Xylolmischung (2:1), solange bis das Fibrin distinkt violett erscheint, während das übrige Gewebe sich mehr oder weniger entfärbt hat.

Hierauf muß das Anilinöl durch Xylol sorgfältig entfernt werden, da sonst die Färbung nach kurzer Zeit verdirbt. Dann Einschluß in Kanadabalsam. Eine Vorfärbung der Kerne mit Parakarmin od. dgl. ist sehr empfehlenswert.

747. Nach Beneke (93) kann man durch Zusetzen von mehr Xylol zum Anilinölxylolgemisch (also 2 : 3) auch Bindegewebsfasern, Knochenfibrillen, Sharpeysche Fasern (s. § 878), Epithelfasern im Plattenepithel (s. § 1308) Interzellularbrücken, Gallenkapillarien u. a. darstellen. Man muß die Differenzierung unter dem Mikroskop verfolgen und, wenn der richtige Entfärbungsgrad erreicht ist, sofort unterbrechen und mit Xylol gut auswaschen.

748. Fibrinfärbung nach **Kockel** (99).

1. Übertragen von 5 μ dicken, mit Eiweißwasser aufgeklebten Paraffinschnitten durch Toluol, Alkohol und Wasser in 1%ige wässerige Chromsäurelösung für 5—10 Minuten.

2. Ganz kurzes Auswaschen in Wasser (höchstens 10 bis 20 Sekunden! Die Schnitte dürfen ihre gelbe Farbe nicht verlieren).

3. 15—20 Minuten langes Färben in folgender Hämatoxylinlösung von Weigert: 1 g Hämatoxylin wird gelöst in 10 ccm abs. Alkohol und dann 90 ccm dest. Wasser und 1 ccm gesättigte wässerige Lithionkarbonatlösung zugesetzt.

4. Abspülen in Wasser, einstellen in eine ca. 10%ige wässerige Alaunlösung, bis die Schnitte dunkelblau sind (ca. 1 Minute).

5. Auswaschen in Wasser und Differenzieren in der Weigertschen Borax-Ferricyankaliumlösung (Borax 2 g; Ferricyankalium 2,5 g; dest. Wasser 100 ccm), die mit der dreifachen Menge Wasser verdünnt wird.

6. Auswaschen in Wasser, ev. Kernfärbung mit Parakarmin usw.

Die Kockelsche Methode färbt neben Fibrin auch Muskeln (Fibrillen!), Blutkörperchen, Gallenkapillaren usw.

749. Schueninoff färbt Fibrin mit dem § 366 angegebenen Malloryschen Hämatoxylin 15—20 Minuten, spült mit Wasser ab und behandelt die Schnitte 20 Minuten bis 20 Stunden weiter mit 5—10%iger Phosphorwolframsäure, wäscht mit Wasser gut aus, dann Alkohol usw.

750. Um **Fibrin** auf dem Objektträger darzustellen, lasse man einen Blutstropfen ein paar Stunden in einer feuchten Kammer ruhig liegen, bedecke das Ganze mit einem Deckglase und wasche mit Wasser ab, indem man von der einen Seite des Deckglases Wasser zusetzt und auf der anderen Seite mit Fließpapier absaugt. Sind die meisten Blutkörperchen weggeschwemmt, so setzt man Jod-Jodkaliumlösung hinzu, wodurch sich die Fibrinfädchen und -netze intensiv gelb bis braun färben.

D. Verschiedenes.

751. Über die Darstellung von Oxyhämoglobin-, Hämoglobin- und Methämoglobinkristallen vgl. Hammarsten (14) S. 264ff. Über die Darstellung von Häminkristallen ebenda S. 275.

752. Hämatoidinkristalle findet man als rotgelbe, aus fuchsroten, rhombischen, eisenfreien Kristallen bestehende Massen in apoplektischen Herden, in corpora lutea des Ovars u. dgl.

753. Der **Blutkreislauf** läßt sich am einfachsten an den im Sommer so leicht zu beschaffenden Kaulquappen von Fröschen oder Kröten untersuchen. Man bedeckt dazu den Rumpf einer auf den Objektträger gelegten Larve mit etwas feuchter Watte. Das Tier schlägt zuerst ziemlich lebhaft, beruhigt sich aber bald, worauf man die Blutgefäße des Flossensaumes mit mittlerer Vergrößerung ohne Mühe einstellen und beobachten kann.

Will man den Blutkreislauf am erwachsenen Frosch untersuchen, dann injiziert man demselben, um ihn unbeweglich zu machen, etwa 0,3—0,6 ccm eines 0,5%igen Kurareextraktes in Glyzerinwasser in den Rückenlymphsack. Dieses Gift wirkt bekanntlich auf die motorischen Endorgane der quergestreiften Skelettmuskulatur, nicht aber auf die des Herzens und der glatten Muskulatur, weshalb auch der Blutkreislauf nicht behindert wird. Auch die sensiblen Bahnen bleiben frei.

754. An einem so kurarisierten Frosch kann man den Blutkreislauf, z. B. an den durchsichtigen Schwimm-Membranen, ohne weiteres beobachten. Um die Membran zu spannen, zieht man zwei Zehen auseinander und befestigt sie vermittelst zweier sog. Insekten-(Karlsbader-)Nadeln über einer in eine Korkplatte mit einem Locheisen gemachte Öffnung. Die Platte wird so groß gewählt, daß auch der Frosch darauf Platz hat. Man bringe die Öffnung der Korkplatte über die Öffnung der Tischplatte des Mikroskops und beobachte.

Die Stellen, an welchen man den Blutkreislauf beobachten kann, sind sehr zahlreich. Man kann, um beim Frosche zu bleiben, die aus dem Munde gezogene und mit Nadeln über eine mit Ausschnitt versehene Korkplatte gespannte Zunge dazu verwenden; auch das Mesenterium läßt sich durch einen in der Axillarlinie gemachten Einschnitt an einer Darmschlinge aus der Bauchhöhle hervorziehen, siehe Cohnheim (67b); für die Lunge verfahre man nach Holmgren (74) (Holmgrensche Kammer).

Ewald (97) empfiehlt die Untersuchung des Blutkreislaufes an der Tritonlunge und gibt die erforderlichen Anweisungen hierzu, S. 248.

Ferner kann der Blutkreislauf der Harnblase (Hällstén,

86) an den quergestreiften Muskeln usw. untersucht werden.

Schwanzpartien kleiner Fische und Fischembryonen, äußere Kiemen von Tritonenlarven und namentlich die so langen und üppigen äußeren Kiemen der Salamanderembryonen können, wenn gerade das Material hierzu vorhanden ist, verwertet werden. Auch Keimscheiben vom 2. oder 3. Tage der Vogelembryonen (Hühnchen, siehe § 1463) können zu demselben Zwecke gebraucht werden.

755. Man achte bei diesen Untersuchungen auf das Vorhandensein des axialen und Wandstromes, auf das Pulsieren in den Arterien usw. Man sieht unter günstigen Umständen die Umkehr des Stromes in den Kapillaren. An den Bifurkationsstellen der Kapillaren bleiben oft die Blutkörperchen hängen und werden ganz enorm (auf das zwei- bis dreifache ihrer ursprünglichen Länge) gedehnt. Wird ein Blutkörperchen wieder frei, so nimmt es die ursprünglichen Dimensionen an (Elastizität).

An Mesenterien, aber auch in der Lunge, treten alsbald infolge der Vertrocknung, Temperaturschwankungen usw. Zustände auf, die als Anfänge der Entzündung aufgefaßt werden, und man sieht u. a. das Auswandern der weißen Blutkörperchen durch die Gefäßwände.

756. Zum Zählen der Blutkörperchen benützt man gewöhnlich den Apparat von Thoma-Zeiß, der aus zwei Kapillarpipetten und einer Zählkammer besteht. Auf der zur Zählung der Erythrozyten bestimmten Mischpipette findet man die Marken 0,1, 0,5, 1,0 und 101 eingeätzt, auf der für weiße Blutzellen bestimmten die Marken 0,5, 1,0 und 11. Das Aufsaugen des Bluttropfens geschieht durch ein mit Mundstück versehenes Gummischläuchchen. Besser und reinlicher ist die von Pappenheim angegebene Saugvorrichtung, nämlich eine auf das Pipettenende luftdicht aufgeschliffene, verschiebbare Glashülse (bei Leitz erhältlich).

Die Zählkammer ist genau 0,1 mm tief. Ihr Boden ist in mikroskopisch kleine Quadrate eingeteilt, wobei je 16 Quadrate durch stärkere Linien immer besonders abgegrenzt sind. Seitenlänge eines jeden Quadrates 0,02 mm, Raum-Inhalt $^1/_{4000}$ cmm.

Von den zahlreichen Modifikationen der in ihrer ursprünglichen Form veralteten Zählkammer sei besonders die **Neubauer**sche Netzteilung empfohlen. Pappenheim bevorzugt die Bürkersche Kammer in Verbindung mit der Türkschen Netzteilung. Das Prinzip ist überall dasselbe.

Reinigung. Die Instrumente sind peinlich sauber zu halten und nach jeder Benützung zu reinigen (mit dest. Was-

ser und Seidenpapier, nicht mit Toluol, Äther o. dgl., da sonst die Verkittung gelöst wird!). Durch die Pipette saugt man mehrmals dest. Wasser, dann abs. Alkohol, dann Äther. Zuletzt bläst man zum Trocknen Luft durch. Bei häufigem Gebrauch empfiehlt sich zur Reinigung der Gebrauch einer Wasserstrahlluftpumpe. Etwaige Blutgerinnsel löst man vorsichtig mit etwas erwärmter Kalilauge.

Ausführung einer Zählung. a) Rote Blutkörperchen: Man saugt sorgfältig einen frischen Bluttropfen in die für Erythrozyten bestimmte Kapillare, und zwar bei normalem Blut bis zur Marke 0,5, bei anämischem bis zur Marke 1,0. Dann zieht man nach sorgfältigem Abwischen der Spitze des Röhrchens unter Vermeidung von Luftbläschen bis zur Marke 101 physiologische Kochsalzlösung oder Hayemsche Flüssigkeit (s. § 684) nach (ev. kann man der Mischflüssigkeit, um die Unterscheidung von weissen Blutzellen zu erleichtern, etwas Methylviolett zusetzen, ca. 0,1 g auf 250 ccm).

Hierauf mischt man die Flüssigkeit 1 Minute lang durch leichtes Schütteln, wobei man die Entstehung von Schaum vermeide, bläst ohne zu warten, die ersten Tropfen aus der Kapillare, bringt einen noch folgenden kleinen Tropfen in die Mitte der Zählkammer und schiebt sogleich unter Druck und bei Vermeidung von Luftblasen das zur Zählkammer gehörige Deckglas auf. Bei richtiger Ausführung müssen an den Rändern Newtonsche Farbringe erscheinen.

Nach einigen Minuten zählt man eine größere Zahl von Quadraten durch, wobei man, um Doppelzählungen zu vermeiden, die auf den Linien eines Quadrates gelegenen Körperchen in der Weise mitzählt, daß man bei jedem Quadrat immer nur die auf der linken vertikalen und auf der oberen horizontalen Begrenzungslinie gelegenen Körperchen mitzählt. In dieser Weise zählt man für genaue Bestimmungen etwa 1000 Erythrozyten.

Berechnung: War das Blut bis zur Marke 1,0 aufgesogen, so ist die Verdünnung 1 : 100. Der Raum über jedem Quadrat mißt aber $^1/_{4000}$ qmm. Man multipliziert daher die Summe der gezählten Erythrozyten mit 400000, dividiert durch die Zahl der gezählten Quadrate und erhält so die Anzahl der Erythrozyten in 1 cmm Blut. Hat man das Blut nur bis zur Marke 0,5 eingesogen, so ist die Verdünnung 1 : 200, und man hat das Ergebnis noch mit 2 zu multiplizieren.

Bei einiger Übung verfährt man folgendermaßen: Aufsaugen bis 0,5; verdünnen bis 101 usw. Dann zählt man 2 vertikale Reihen der mittleren großen Quadratfelder (= 40 kleine Quadrate) und multipliziert die Summe mit 2000.

b) Weiße Blutzellen: Zur Zählung der weißen Blutzellen saugt man mit der zweiten Pipette einen Bluttropfen bis zur Marke 1,0 und verdünnt durch Nachsaugen der Mischflüssigkeit bis zur Marke 11,0 (Verdünnung 1 : 10, bei leu-

kämischem Blut bis 0,5 und Mischflüssigkeit bis 11,0, Verdünnung = 1 : 20). Als Mischflüssigkeit benützt man, um die Erythrozyten zur Erleichterung der Zählung unsichtbar zu machen, 5%ige Essigsäure, der man ev. auf 250 ccm 0,025 g Methylgrün oder Vesuvin zusetzt. Zur Bestimmung zählt man die 9 großen Quadrate der Zählkammer durch und multipliziert den daraus berechneten Durchschnittswert mit 100 (bei Ansaugen bis 0,5 mit 200).

Bei exakter Herstellung der Präparate genügt es auch, nur die 4 großen Eckquadrate auszuzählen, die Summe davon durch 4 (bei Ansaugen bis 0,5 mit 2) zu dividieren und das Ergebnis mit 100 zu multiplizieren.

Zeigen die Einzelwerte der einzelnen Quadrate größere Unterschiede, so deutet das auf eine fehlerhafte Herstellung des Präparates (ungleichmäßige Mischung, Sedimentierung der Bluttropfen, schlechtes Aufliegen des Deckglases u. dgl.).

757. Zur Feststellung, in welchem Prozentverhältnis die einzelnen Arten der weißen Blutzellen vorhanden sind, ermittelt man einerseits, wie eben beschrieben, die Gesamtzahl der weißen Blutzellen, anderseits mustert man an einem gleichzeitig angefertigten und in der gewünschten Färbung tingierten dünnen Ausstrichpräparat 300—500 weiße Blutzellen durch und bestimmt dabei, wie viele von ihnen den einzelnen Gruppen (neutrophile, eosinophile Leukozyten, Lymphozyten usw. zugehören. Daraus lassen sich dann alle weiteren Zahlenverhältnisse errechnen. Weiteres s. Pappenheim 19.

16. Kapitel. Untersuchung des Bindegewebes.

A. Untersuchung des frischen Präparates.

1. Kollagenes Bindegewebe.

758. Ein leicht zu beschaffendes Objekt zur Untersuchung frischen parallelfaserigen Bindegewebes findet man in den Sehnenfasern des Mäuseschwanzes. Man zwickt dazu mit den Fingernägeln ein paar Endwirbel des Schwanzes einer eben getöteten Maus samt der Haut durch und zieht an dem nur noch an den Sehnenfasern hängenden Stück fest an. Auf diese Weise läßt sich ein ganzer Strang dünner, glänzender, langgestreckter Sehnenfaser herausziehen.

759. Ein Stückchen davon wird mit einer scharfen Schere abgeschnitten und nach der **Methode der Halbeintrocknung** (Ranvier 89) auf dem Objektträger gefasert, d. h. man nimmt möglichst wenig Flüssigkeit, nur gerade so viel, als nötig ist, um ein Austrocknen des Präparates zu verhüten. Operiert man rasch, so genügt mehrmaliges Anhauchen, braucht man länger, so bedeckt man mit einem

kleinen Tropfen einer physiologischen Kochsalzlösung. Auf keinen Fall nehme man zu viel Flüssigkeit, da dadurch das Arbeiten sehr erschwert wird. Bei richtiger Technik gelingt es dann verhältnismäßig leicht, die Sehnenfasern zu einer zarten, schleierartigen, aus feinsten kollagenen Fasern bestehenden Membran auseinanderzubreiten. Der Anfänger neigt zu dem Fehler, das zu zerzupfende Stückchen zu groß zu nehmen; dann erschöpft sich die Geduld, bevor das Präparat bis zur nötigen Feinheit bearbeitet ist.

760. Das zerzupfte Präparat untersuche man zunächst in physiologischer Kochsalzlösung und sodann in einer konzentrierten Lösung von Neutralrot in physiologischer Kochsalzlösung.

761. Setzt man verdünnte, etwa 1%ige Essigsäure zu, so quellen die Fibrillen sehr stark auf und werden zuletzt so durchsichtig, daß sie kaum mehr zu sehen sind. Dagegen treten die Zellkerne nunmehr deutlich hervor.

762. Kalilauge, namentlich verdünnt und in der Wärme, bringt Sehnenfasern und Fibrillen zur Lösung.

763. Die die Fibrillen verklebende muzinartige Substanz, das Bindemittel, löst sich in Kalk- und Barytwasser — eine für Bindegewebefibrillen von Rollet (58) empfohlene Isolationsmethode. Mit Kalkwasser behandle man dazu frische Sehnenfasern 6—8 Tage; mit Barytwasser 4—6 Stunden. Will man solche Präparate dauernd konservieren, so muß man das Kalk- bzw. Barytwasser nach Beendigung der Mazeration vorsichtig neutralisieren. Die fibrilläre Auffaserung von Bindegewebsfasern kann man auch im nekrotischen Gewebe häufig beobachten (Ranvier 89).

764. Auch das große Netz, z. B. des Kaninchens, ist zu Untersuchung von fibrillärem Bindegewebe (areoläres Gewebe) sehr geeignet. Will man hier gleichzeitig noch die Endothelzellen darstellen, dann versilbere man nach § 664 und färbe mit Karmin und ev. Pikrinsäure nach.

765. Embryonales Bindegewebe untersuche man an Hühner- und Kaninchenembryonen. **Gallertgewebe** nimmt man am besten vom Nabelstrang.

766. Das **retikuläre (adenoide) Gewebe** studiert man am besten in Lymphdrüsen und ähnlich gebauten Organen.

767. Um die Elemente des **Koriums** darzustellen, bedient man sich folgender Methode: Einem eben getöteten Hunde wird die Haut leicht abgehoben und eine Silbernitratlösung 1 pro mille subkutan (oder vielmehr subepidermoidal) eingespritzt. Es bildet sich dann eine kleine

Ödemkugel, innerhalb welcher die Fasern etwas gedehnt und im gedehnten Zustande fixiert werden. Es wird ein einer solchen Ödemkugel mit einer krummen Schere entnommenes Fetzchen auf dem Objektträger gewaschen und unter der Lupe zerfasert, ev. durch Zusatz eines Tropfens Pikrokarmin auf dem Objektträger gefärbt. Dabei isoliert man Bindegewebsbündel, elastische Fasern, gutfixierte Bindegewebszellen, ev. Fettzellen. An den Bindegewebsfasern sieht man oft spiralig verlaufende, einschnürende Fasern, die sich anders verhalten wie die Bindegewebsfibrillen. Vgl. Kapitel Haut.

Dabei erhält man auch häufig sehr lehrreiche Bilder von Fettzellen.

2. Elastische Gewebe.

768. Grobe Fasern des elastischen Gewebes verschafft man sich vom Ligament. nuchae z. B. eines Rindes; feinere Fasern findet man ziemlich zahlreich in der lockeren Adventitia großer Gefäße. Allerfeinste Fasernetze trifft man im Mesenterium z. B. der Katze und in der Membrana subhyaloidea des Frosches (vgl. Loginow). Die Entwicklung der elastischen Fasern läßt sich sehr schön in den Eihäuten verfolgen. Das Zerzupfen ist hier schwieriger als beim kollagenen Gewebe. Die isolierten Fasern krümmen sich meist eigentümlich (Bischofsstabform).

769. Durch Zusatz von verdünnter Essigsäure oder Kalilauge wird das elastische Gewebe nicht verändert; die elastischen Fasern sind im Gegensatz zu den kollagenen besonders der Kalilauge gegenüber sehr resistent. Diese letztere Eigenschaft kann man benützen, um die feinen und feinsten elastischen Fasern zur Darstellung zu bringen. Man läßt z. B. auf eine dünne ausgebreitete Lamelle von Lungengewebe verdünnte Kalilauge einwirken; nach ein paar Stunden löst sich das kollagene Bindegewebe, Blut usw., und es bleiben nur mehr die feinsten, die Alveolen umspinnenden elastischen Fäserchen zurück.

770. Aus den zahlreichen Angaben Malls (91 und 96) über das Verhalten des Bindegewebes gegen verschiedene Reagenzien sei besonders hervorgehoben:

Die elastischen Fasern bleiben in Essigsäure (auch beim Kochen in 20%iger) unverändert, sie werden nur brüchig; in konzentrierter Salzsäure gekocht, zerfällt die elastische Faser sehr rasch; in 10%iger bleibt sie bei gewöhnlicher Temperatur unverändert, in 50%iger löst sie sich in 7 Tagen, in konzentrierter schon am zweiten Tage; zuerst löst sich das Innere der Faser, dann die »Fasermembran«. Zur Darstellung der

letzteren kocht man die elastischen Fasern ein paarmal in konzentrierter Salzsäure auf und gießt das Ganze in kaltes Wasser aus. Manchmal sieht man an den Membranen eine longitudinale Strichelung, welche auf einen fibrillären Bau hindeutet. Konzentrierte Kalilauge zerstört die Faser in wenigen Tagen, schwache Lösungen nur sehr langsam; eine 1%ige braucht dazu Monate, eine 2%ige einen Monat, eine 5%ige 3 Tage, 10%ige einen Tag, 20—40%ige Stunden. Eine schwache Kalilauge löst, auch kochend angewandt, die elastischen Fasern nicht auf; sie werden darin auch nicht brüchig. In 5- oder 10%iger Kalilauge gekocht, isolieren sich die »Fasermembranen«, ebenso in 20%iger kalter Lösung in 1 bis 2 Tagen. Durch Pepsin zerfällt der Inhalt der Faser, die »Membranen« bleiben übrig.

Trypsin löst die elastischen Fasern rasch auf, nicht aber das Sehnen- und das retikulierte Gewebe, welch letztere tagelang darin unverändert bleiben. Die Fäulnis zerstört das Lig. nuchae in wenigen Tagen; zuerst zerfällt das Innere der Faser, dann die »Fasermembranen«.

Um den Faserinhalt und die »Fasermembranen« zu demonstrieren, empfiehlt sich eine Färbung mit Magentarot (ein Körnchen Magentarot auf 50 g Glyzerin + 50 g Wasser). Der Inhalt färbt sich rot, die Faserscheide bleibt farblos.

Wird eine Sehne gekocht, so wird sie kürzer. Fixiert man die Sehne vor dem Kochen, so verkürzt sie sich nicht. Das adenoide Gewebe schrumpft beim Kochen, quillt nach kurzer Zeit und löst sich später auf. Sehnengewebe und adenoides Gewebe schrumpfen schon bei 72° C. Behandelt man sie aber eine kurze Zeit mit ½%iger Osmiumsäure, so tritt die Schrumpfung erst bei 95° C ein. Sind das Retikulum oder die Sehne durch Erwärmung geschrumpft, so lassen sie sich sehr leicht mit Pankreatin (Trypsin) verdauen und werden durch Fäulnis sehr leicht zerstört.

In konzentrierter und in einer Essigsäure von unter $^1/_{20}$% quellen die Sehnenfasern nicht. In Säuren zwischen ½ und 25% quellen sie hingegen auf; in 25%iger werden sie nach 24 Stunden gelöst. Ameisensäure in stärkster Verdünnung, $^1/_{500}$%ig z. B., bringt Sehnenfasern in kurzer Zeit zum Quellen. Zachariadés. In Salzsäure von 0,01% bis 6% quellen die Sehnenfasern auf. In einer 6—25%igen Lösung bleiben sie eine Zeitlang ganz unverändert, und erst in konzentrierter Säure lösen sie sich. 10%ige Salpetersäure verändert das Volumen der Sehnenfaser kaum; $^1/_{50}$%ige wirkt am stärksten quellend. Zachariadés. Das retikulierte Gewebe quillt in Salzsäure bis 3%, bleibt unverändert zwischen 3—10% und löst sich nach 24 Stunden in 25%iger Säure und in höheren Konzentrationen derselben. Nach Behandlung mit verdünnter Säure löst sich beim Kochen die Sehne viel rascher auf als das retikuläre Gewebe.

Im natürlichen Magensaft des Hundes lösen sich die Sehnen nicht schneller als das elastische Gewebe auf; im künstlichen dagegen löst sich zuerst die Sehne, dann das retikulierte Gewebe, dann die elastische Faser auf (vgl. über fraktionierte Verdauung, Spalteholz, 03). Pankreatin greift weder die Sehne noch das retikulierte Gewebe an. Werden beide gekocht, so werden sie leicht in Pankreatin verdaut.

Die Fäulnis zerstört weder die Sehne noch das Retikulum, wenn sie der Leiche entnommen worden sind. In der Leiche, und namentlich bei höherer Temperatur (37°), zerfallen beide Gewebe in kurzer Zeit.

3. Untersuchung des Bindegewebes mit Hilfe der Verdauungsmethoden.

771. Für manche Untersuchungen läßt sich mit Vorteil das verschiedene Verhalten der einzelnen Gewebsbestandteile gegenüber **Trypsin** (Pankreatin) benützen. Dabei ist aber zu beachten, daß das Resultat je nach der Wirksamkeit des Fermentes, der Dauer der Einwirkung, der Vorbehandlung des Objektes sowie auch je nach der Tierart variieren kann. Im allgemeinen werden kollagenes und retikuläres Bindegewebe, Keratin, Fett und Kohlehydrate sowie das Chromatin der Kerne durch Trypsin nicht oder nur wenig verändert, während die eigentlichen Eiweißkörper, ferner Muzin, Leim, elastisches Gewebe, Chondromukoid u. a. gelöst werden. Auch junge kollagene Fibrillen leisten dem Trypsin wenig Widerstand.

772. Ewald und Kühne (74) machten bei Verdauung mit schwach alkalischem Glyzerinpankreasextrakt (bei 35° C) folgende Feststellungen:

1. Sehnen zerfallen in einzelne Faszikel oder in Fibrillen; von allen anderen Bestandteilen bleiben nur geschrumpfte Kerne erhalten, die leicht abfallen.

2. Alveoläres Bindegewebe des Mesenteriums verhält sich wie Sehne; Endothelien werden gelöst bis auf die Kerne.

3. Retikuläres Bindegewebe wird in vollkommener Reinheit dargestellt.

4. Hyaliner Knorpel. Die Zellen werden bis auf die Kerne gelöst, die Grundsubstanz stellt ein eigenartiges, etwas körniges Netzwerk dar, von dem Verhalten des Kollagens.

5. Elastischer Knorpel verhält sich wie hyaliner; die elastischen Fasern verschwinden.

6. Elastisches Gewebe wird gelöst.

7. Sogenannte strukturlose Membranen werden vollkommen gelöst.

8. Die Leber ist bis auf die Kerne und das Kollagen vollkommen verdaulich. Das fibrilläre Bindegewebe erstreckt sich bis zur Vena intralobularis.

9. Muskeln werden bis auf die bindegewebigen Bestandteile verdaut.

10. Von den Epithelien der Schleimhäute bleiben nur die Kerne zurück.

11. Bei Schnitten menschlicher Oberhaut fällt zuerst das Rete Malpighii heraus, dann werden Stachelzellen isoliert, hierauf zeigen sich die Zellen der Hornschicht wie hohl mit doppelter Kontur.

773. Man benützt jetzt meist das bei Merck oder bei Grübler erhältliche **Pankreatinum siccum** depuratum, von dem man in 100 ccm einer 0,3%igen wässerigen Sodalösung eine Messerspitze voll löst. Um Fäulnis zu verhüten, setzt man noch 2—3 ccm Toluol (besser als Chloroform) zu und schüttelt gut durch. Für exakte Untersuchungen empfiehlt sich steriles Arbeiten. Die Verdauung erfolgt meist 10—24 Stunden oder länger bei 37° C. Durch Erwärmen über 50° C wird das Ferment unwirksam. Man prüfe das zur Verwendung kommende Trypsin ev. durch einen Probeversuch an Fibrin, das von einem guten Präparat in einigen Stunden aufgelöst sein muß.

774. Da Pankreatin nur bei völlig entfettetem Präparat exakt wirkt, empfiehlt es sich, das Objekt vorher durch Einlegen in Benzin, Äther od. dgl. zu entfetten.

775. Die Verdauung kann am Schnitt (s. § 777 f.) oder am Stück (s. § 780) vorgenommen werden. Will man die feinsten Fäserchen erhalten, so läßt man Paraffinschnitte, ohne das Paraffin zu entfernen, auf der Verdauungsflüssigkeit schwimmen (s. § 779). Weiteres bei Spalteholz.

776. Die Vorbehandlung des Bindegewebes hat einen wesentlichen **Einfluß** auf die Resultate der Verdauung desselben. So sind z. B. in Osmiumsäure fixierte elastische Fasern in Pepsin unlöslich. Mit sehr schwachen Chromsäurelösungen ($^1/_{3000}$) im Lichte behandelte elastische Fasern sind in Trypsin unveränderlich, werden dagegen verdaut, wenn sie im Dunkeln ebenso fixiert waren. Dasselbe gilt für kollagene Gewebe. (Ewald 90.)

777. Schnittverdauung (nach Björkenheim): Um ein Abschwimmen der Präparate zu verhüten, ist es nötig, daß die Objektträger vollkommen rein und fettfrei sind. Man reinige sie nach § 37 oder lege sie 3—4 Tage in Seifenlösung. 1. Fixierung in Alkohol oder Sublimat, nicht in

Formol, Chromsäure, Osmiumsäure. 2. Einstellen der auf Wasser aufgeklebten, 6—8 μ dicken Schnitte in Xylol (3—4 Stunden), von hier durch abs. Alkohol für 6—7 Tage in Benzin (Entfettung). 3. Abs. Alkohol, 96%iger Alkohol, und für einige Minuten in dest. Wasser. 4. Einstellen der Schnitte für 24 Stunden in Barytwasser, um die Schnitte aufzulockern und dadurch die Verdauung zu begünstigen (Kolster). 5. Abspülen in fließendem Wasser. 6. Verdauen in Pankreatinlösung (1 Messerspitze pancreatin. siccum auf 40 ccm einer 1%igen Sodalösung) 6—24 Stunden bei 37° C. 7. Vorsichtiges Abspülen in dest. Wasser. 8. Färbung in Malloryschem Hämatoxylin. 9. Vorsichtiges Abspülen in dest. Wasser; Alkohol usw.; Balsam. Die Zeit, wie lange die Schnitte in der Verdauungsflüssigkeit liegen sollen, läßt sich von vornherein nicht bestimmen; junge Uteri brauchen etwa 6 Stunden, Vaginen von Greisinnen 3 Tage, bis das Reticulum freiliegt. Verdaut man längere Zeit, als nötig ist, so löst sich das Bindegewebe vom Objektträger ab. Überhaupt hat das Abspülen der Präparate nach der Verdauung, um Verluste zu vermeiden, sehr behutsam zu geschehen.

778. Hoehl entfettet die aufgeklebten, paraffinbefreiten Schnitte 1—3 Tage in Benzin bei 37° C, bringt durch Alkohol für 10—20 Minuten in Wasser und dann in die § 777 angegebene Verdauungsflüssigkeit (10—24 Stunden bei 37° C). Dann vorsichtiges Auswaschen in fließendem Wasser, Färbung in einer 0,5%igen wässerigen Lösung von Ferridammonium tartaricum für 1—24 Stunden, dann kurz in Wasser und 3—24 Stunden in eine 0,5%ige wässerige (gereifte) Hämatoxylinlösung. Dann Wässern usw. Sind nach Abspülen des Farbstoffes die Bälkchen des Reticulums noch nicht tiefschwarz, so kommt das Präparat noch auf 20—30 Minuten in die stets frisch zu bereitende Eisensalzlösung zurück.

779. Bei sehr zarten Schnitten läßt man die Verdauungsflüssigkeit nach dem Vorgange C. M. Jacksons vor Entfernung des Paraffins einwirken, indem man die 6—8 μ dicken Schnitte entweder aufgeklebt in die Lösung stellt oder besser sie auf ihr schwimmen läßt. Man muß die Trypsinlösung jedoch länger als sonst einwirken lassen (1—4 Tage). Die verdauten Schnitte werden ausgewaschen und vor Lösung des Paraffins noch mit Eisenhämatoxylin gefärbt (1 Tag Eisenalaun, 1 Tag Hämatoxylin, differenzieren unnötig). Dann kann man nach Auswaschen,

Aufkleben und Trocknen der Schnitte das Paraffin durch Xylol lösen und in Balsam einschließen.

780. Stückverdauung: Flint fixiert dazu die Organe in Carnoyscher Flüssigkeit (s. § 118), zerschneidet sie in nicht über 3 mm große Stückchen und entfettet diese ca. 1 Woche im Soxhletapparat mit Äther. Dann werden sie durch die Alkoholreihe in Wasser gebracht, 24 Stunden ausgewaschen und mit Pankreatinlösung (alle 48 Stunden erneuern!) bei 37° C so lange verdaut, bis reines Bindegewebe zurückbleibt. Die Zeitdauer variiert, durchschnittlich dauert der ganze Prozeß 1 Monat.

4. Färbungsmethoden.

a) Färbung des kollagenen Gewebes.

781. An erster Stelle ist die ausgezeichnete **Bindegewebsfärbung** von **Mallory** (00) zu nennen. Fixierung in Sublimat, Zenkerscher, Orthscher Flüssigkeit oder nach § 192, 193 oder 194.

Färbung der Schnitte: 1. Färben in einer 0,1%igen wässerigen Säurefuchsinlösung 3 Minuten. 2. Kurzes Auswaschen in Wasser und Fixieren der Färbung durch Einstellen in 1%ige Phosphormolybdänsäure 3—5 Minuten. 3. Auswaschen in Wasser und 2 Minuten Färben in einer Lösung von Anilinblau 0,5 g; Orange G 2 g; Oxalsäure 2 g; dest. Wasser 100 ccm (die längere Zeit haltbare Lösung wird gekocht, abgekühlt und filtriert). 4. Auswaschen in Wasser, Differenzieren in 96%igem Alkohol, abs. Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. Resultat: Kollagenes und retikuläres Bindegewebe scharf dunkelblau, Schleim blau, Erythrozyten rotorange, quergestreifte Muskulatur leuchtend orange, Neuroglia, Ganglienzellen rotviolett, Chromatin rot bis gelblich bräunlich.

Säurefuchsin wird von Alkohol gar nicht, stark aber von Wasser angegriffen (daher Fixierung in Phosphormolybdänsäure); Anilinblau verhält sich umgekehrt.

782. Am schönsten gelingen in Sublimat und Zenker fixierte Präparate, doch können auch in Formol, Alkohol, Bouinscher oder Flemmingscher Flüssigkeit fixierte Objekte mit gutem Erfolg nach Mallory gefärbt werden, wenn man die Schnitte vor der Färbung 20 Minuten bis mehrere Stunden in Zenkersche Flüssigkeit oder in 3%ige Kaliumbichromatlösung einstellt, kurz abwäscht und färbt (Mc. Gill. 09).

783. Die Modifikationen von Sabin (bei Mall, American Journ. Bd. 1) Wooley, Loele und Loewenstein sind nach meinen Erfahrungen entbehrlich. Auch die neuere von Mal-

lory (05) selbst angegebene Methode (s. auch Coca) hat keine wesentlichen Vorzüge, zumal die Haltbarkeit dieser Farblösung geringer zu sein scheint. (5 Minuten Färben in 0,1%igem wässerigen Säurefuchsin, dann für 20 Minuten oder länger gleich in Anilinblau 0,5 g + Orange G 2 g + 1%ige wässerige Lösung von Phosphormolybdänsäure 100 ccm, Auswaschen in 95%igem Alkohol, nicht länger als 2 Minuten, abs. Alkohol, Xylol, Balsam.)

784. Um die Kerne besser hervorzuheben, empfiehlt Herxheimer mit Lithionkarmin vorzufärben.

785. Modifikation von Heidenhain (15). 1. Kernfärbung. Man bringt die Schnitte, um sie alkalisch zu machen, zunächst in eine Anilin- oder Cinchoninlösung (1 : 1000 Alkohol von 96%). Nach 30 Minuten überträgt man in eine 1%ige Aufschwemmung von **Azokarmin G** (Badische Anilin- und Sodafabrik), wärmt diese ½—1 Stde. im Thermostaten bei 56° C an, läßt die Schnitte allenfalls noch 1—2 Stunden bei 37° in der Farbe, spült mit Wasser ab und differenziert mit der alkoholischen Anilinlösung, bis die Kerne gut hervortreten. Durch Zusatz von etwas Wasser zur Anilinlösung läßt sich der Vorgang beschleunigen. 2. Einstellen der Schnitte zur Beizung und völligen Entfärbung des Bindegewebes in eine 5%ige Phosphorwolframsäure (½—3 Stunden), kurzes Abspülen in dest. Wasser. 3. Färben in der Anilinblau-Orange-Oxalsäurelösung von Mallory, die man mit dem gleichen oder doppelten Volumen Wasser verdünnt, 1—3 Stunden. Abwaschen in Wasser, ev. Differenzieren in abs. Alkohol, Xylol, Balsam.

Die Oxalsäure der Malloryschen Mischung kann auch durch 8% Essigsäure ersetzt werden.

786. Ausgezeichnete Farbdifferenzierung gibt die Methode von **Pasini.** Fixierung in Alkohol, Formol, Sublimat, Zenkerscher oder Orthscher Flüssigkeit u. a. Einbettung in Paraffin oder Zelloidin. Färbung: 1. Übertragen der Schnitte aus Wasser in eine 2%ige Lösung von Phosphorwolframsäure für 10 Minuten. 2. Kurz Abspülen in dest. Wasser. 3. Färben 15—20 Minuten in folgender Mischung: Wasserblau-Orcein nach Unna: 10 Tropfen + 2%ige Eosin-B.-A.-Lösung in 50%igem Alkohol: 12 Tropfen + gesättigte wässerige Säurefuchsinlösung: 1 Tropfen + neutrales Glyzerin 5 Tropfen. 4. Wässern in dest. Wasser. 5. Differenzieren in abs. Alkohol. 6. Eintauchen in 2%ige Phosphorwolframsäure (einige Sekunden). 7. Abs. Alkohol. Xylol, Balsam.

Resultat: Das kollagene Bindegewebe ist scharf blau, das Protoplasma hellblau, Kerne, Epithelfasern, Keratohyalin rot, Keratin gelbrot gefärbt.

Ich habe das Volumen der Tropfen bestimmt und dabei für die oben angegebenen Mengen folgende Zahlen gefunden: Wasserblau-Orcein = 0,3 ccm; Eosin = 0,3 ccm; Säurefuchsin = 0,04 ccm; Glyzerin = 0,25 ccm.

787. Zur **Herstellung der Unnaschen Wasserblau-Orceinlösung** löst man a) 1 g Wasserblau in 100 ccm dest. Wasser und b) 1 g Orcein in 50 ccm abs. Alkohol, setzt hierzu 5 ccm Eisessig und 20 ccm Glyzerin und vereinigt Lösung a und b.

788. Es gibt noch eine zweite Wasserblau-Orcein-Lösung von Unna mit Eosin (s. § 674), die jedoch für die Pasini-Methode nicht zu brauchen ist.

789. Sehr gute Resultate gibt auch die von **Heidenhain** (08b) angegebene Färbung mit **Pikroblauschwarz,** durch die sich, besonders nach Fixierung in Sublimat, Subtrie, Alkohol, Orthscher oder Hellyscher Lösung auch Retikulumfasern, Basalmembranen, intrazellulär gelegene, entstehende Fibrillen, sehr scharf darstellen lassen. Auch die Zellgrenzen werden oft gut sichtbar. Man färbt zuerst in Lithionkarmin, Karmalaun od. dgl. und dann unter Kontrolle mit dem Mikroskop progressiv in: Blauschwarz B 1 g, konz. wässerige Pikrinsäure 400 ccm; Methylalkohol 80 ccm, dest. Wasser 320 ccm. Die Farblösung ist unbegrenzt haltbar; zur Färbung ist es zweckmäßig, sie mit dem gleichen Volumen Wasser zu verdünnen. Resultat: Bindegewebe scharf schwarz gefärbt, Knorpel graublau, Muskel gelblich, Dotter gelb, ebenso Erythrozyten, Kerne rot.

790. Ähnlich wirkt die von Freeborn angegebene Färbung mit **Pikro-Nigrosin,** welche Schaffer (99) zur Wahrnehmung dünnster Häutchen von der Fläche empfiehlt. Die mit Wasser aufgeklebten Schnitte werden 30 Minuten oder länger in einem Gemisch von 90 ccm gesättigter wässeriger Pikrinsäure- und 10 ccm 1%iger wässeriger Nigrosinlösung gefärbt; sodann Auswaschen, Alkohol, Xylol, Balsam. Resultat: Bindegewebe blauschwärzlich, Muskelfasern graugrün (Verdichtungsknoten leuchtend gelb).

791. Merkel (09) färbt in Eisenhämatoxylin vorgefärbte Bindegewebsschnitte von Zenker oder Müller (ev. mit Formolzusatz-)Präparaten in Säuregrenat 1 ccm auf 200 ccm Aqua dest. unmittelbar vor Gebrauch zu gleichen Teilen mit konzentrierter wässeriger Pikrinsäure gemischt, eine Minute, dann direkt in 96%igen, resp. (Paraffinschnitte) abs. Alkohol, durch Origanumöl, resp. Xylol in Balsam.

792. Ferner verwandte Merkel (09) zum gleichen Zwecke Naphtholschwarz (1%ig), konz. Pikrinsäure zu gleichen

Teilen, dazu 2—3 Tropfen konz. Orange-G-Lösung 10 Minuten, abspülen in Wasser, 96%iger oder abs. Alkohol. Origanumöl oder Xylol, Balsam.

793. Nach Hämatoxylinkernfärbung eignet sich zur Darstellung von Bindegewebsfasern besser als Eosin eine konzentrierte Lösung von **Chromotrop 2 R** in abs. Alkohol. Abspülen in abs. Alkohol, Xylol, Balsam (in Heidenhain 05d und 08a).

794. Traina (09) gibt folgende Methode an: Schnitte von in Sublimat, Zenkerscher oder Orthscher Lösung fixierten Präparaten kommen für 2 Stunden in frisch hergestellte 2%ige Resorzinlösung. Nach kurzem Abspülen färbt man 10 Minuten in 1%iger Acridinrotlösung; sodann Eintauchen in dest. Wasser und Nachfärben in einer Mischung von 95 ccm gesättigter wässeriger Pikrinsäure und 5 ccm eine 1%igen wässerigen Wasserblaulösung. Nach kurzem Abspülen Entwässern in abs. Alkohol, dann Xylol, Balsam. Resultat: Bindegewebe blau, Kerne und Kolloid rot, Muskel und Protoplasma grün.

795. Sehr zahlreich sind die Methoden mit **Säurefuchsin-Pikrinsäure,** die besonders als van Giesonsche Färbung allgemein üblich sind, obwohl ihr z. B. die Mallorysche an Schärfe und Haltbarkeit weit überlegen ist. Über die van Giesonsche Färbung und ihre Modifikationen vgl. § 415 ff.

796. Ähnlich ist die Bindegewebsfärbung von **Hansen** (98a, 05), zu der man folgende längere Zeit haltbare Stammlösung benötigt:

100 ccm gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung.
5 ccm 2%ige wässerige Säurefuchsinlösung.

Will man intensivere Färbung erzielen, so nehme man etwas mehr Säurefuchsin (7,5—10 ccm), färbe aber dann kürzere Zeit (30—60 Sekunden).

Vor dem Gebrauche setzt man zu 30 ccm dieser Stammlösung 7 Tropfen 1%iger Essigsäure hinzu. Man färbt 20 Minuten bis 24 Stunden, tropft ab und bringt in Wasser, welchem man auf 30 ccm 20 Tropfen der zuletzt genannten angesäuerten Farbe zusetzt, für wenige Sekunden, entwässert in 96%igem Alkohol, den man einmal wechselt, 3 Minuten und überträgt in abs. Alkohol, den man ebenfalls erneuert, auf 5 Minuten. Dann kommt Xylol, dicker Kanadabalsam. — Bindegewebsfibrillen rot, alle anderen Bestandteile der Schnitte gelb. Vorfärbung, z. B. mit Hämatoxylin, ist zulässig. Pikrinsäure löst sich in starkem Alkohol rascher wie Säurefuchsin. Die Färbung vergeht bald, wenn man Schnitte mit Objektträgern und Deckgläsern aus gewöhnlichem Glas in Berührung bringt. (Schaffer 96.) Die Fär-

bung erhält sich länger, wenn man Objektträger und Deckgläser aus Glimmer benützt. Vgl. § 415.

797. Schaffer (96, 99) verwendet zur elektiven Bindegewebsfärbung gesättigte, wässerige **Pikrinsäure** 100, Patent-**Säurerubin** 0,15, Eisessig 2 Tropfen. Vorbehandlung Sublimat oder Alkohol, Färbedauer 1 Minute bis Stunden, wenn mittels Hämatoxylin-Tonerde vorgefärbt wurde; direkt in 95%igen-Alkohol, darin gut ausschwenken.

798. Viel schärfer als in den § 795 bis § 797 angeführten Methoden werden die kollagenen Fasern (und auch das retikuläre Gewebe) durch die Modifikation der Ribbertschen Methode von Hueter (11) dargestellt:

Schnitte beliebig fixierter Präparate kommen ev. nach Karminvorfärbung 15—30 Sekunden in 10%ige Phosphorwolframsäure, werden flüchtig in Wasser gespült und in **Phosphorwolframhämatoxylin** (s. u.) gefärbt. Hierauf werden die Schnitte 10—20 Minuten in öfters gewechseltem 50%igem Alkohol gebläut, dann durch abs. Alkohol (10 bis 15 Minuten) in Xylol und Balsam gebracht. Resultat: Gitterfasern leuchtend blau.

Herstellung des Phosphorwolframhämatoxylins (von Schueninoff): Hämatox. 1,75 g; Acid. carbol. crist. 5 g, 10%ige wässerige Phosphorwolframsäure (Kahlbaum) 10 ccm, dest. Wasser 200 ccm. Die Lösung muß mehrere Monate im Sonnenlicht reifen.

799. Bei der Ribbertschen Modifikation der Hämatoxylinmethode von Mallory kommen beliebig fixierte Schnitte ½ Minute in 10%ige wässerige Phosphormolybdänsäurelösung, abspülen mit Wasser, dann in (an der Sonne mehrere Monate) gereifte Lösung: 10%ige Phosphormolybdänsäure 10, Hämatoxin 1,75 g, Ac. carb. crist. 5 g, Aqua dest. 200 für 5 Minuten, waschen in Wasser, Alkohol, Xylol, Kanadabalsam: Kollagene Fasern tief schwarzblau.

800. Methode von **Verocay:** Aufgeklebte Schnitte beliebig fixierter Objekte werden (bei Paraffineinbettung nach Entfernung des Paraffins) gründlich gewässert und etwa 10—24 Stunden bei 46° C in 1%iger wässeriger Chromsäurelösung gebeizt. Die Dauer der Beizung ist je nach Organ und Fixierung verschieden. Hierauf wird nach zweimaligem Abspülen in Wasser ½—2 Stunden in unverdünntem Delafieldschen Hämatoxylin gefärbt. Nach kurzem Auswaschen in Wasser ev. Kontrastfärbung mit Eosin, Aurantia, Orange od. dgl. Alkohol, Xylol, Balsam. Resultat: Bindegewebsfasern blauschwarz. Mißerfolge kommen nach Verocay hauptsächlich dadurch zustande, daß man vor der Chromierung nicht genügend gewässert hat; bei

Zelloidinschnitten auch dadurch, daß man die Objekte auf Material aufgeblockt hat, das vom Alkohol angegriffen wird (z. B. Holzblöckchen).

801. Sehr wertvoll sind die **Silbermethoden** nach Bielschowsky-Maresch und nach Achucarro-Ranke. Bei ihnen färben sich kollagene Bindegewebsfasern wie besonders auch retikuläre Fasern (Gitterfasern) intensiv schwarz bzw. braunschwarz. Beide Methoden liefern außerordentlich scharfe Bilder.

802. Methode von **Bielschowsky-Maresch.** 1. Man fixiert 24 Stunden in 10%iger Formollösung und wäscht in fließendem Wasser ca. 6 Stunden aus.

2. Möglichst dünne Gefrierschnitte (5—10 μ) kommen aus dest. Wasser für 24—48 Stunden in eine 2%ige Silbernitratlösung.

3. Nach raschem Spülen in Wasser kommen die Schnitte für 2—30 Minuten in eine frisch zu bereitende ammoniakalische Silberlösung (s. u. § 803).

4. Nach Durchziehen durch dest. Wasser werden sie in 20%ige, mit Wasserleitungswasser hergestellte Formollösung übertragen, 5—30 Minuten (bis keine weißen Wolken mehr abgehen und die Schnitte schiefergrau-schwärzlich sind).

5. Nach kurzem Auswaschen mit Brunnenwasser kommen die Schnitte in ein Goldbad (etwa 5 Tropfen einer 1%igen wässerigen Goldchloridlösung auf 10 ccm dest. Wasser und 2—3 Tropfen Eisessig), bis sie eine rotviolette Farbe angenommen haben (10 Minuten bis 1 Stunde).

6. Abspülen in dest. Wasser und Fixieren in 5%iger Natriumthiosulfatlösung (Fixiernatron) ½—1 Minute (nicht länger, da sonst die Imprägnierung an Schärfe verliert).

7. Sehr sorgfältiges Auswaschen in Wasser (mehrere Stunden), Entwässern usw., Balsam. Das Übertragen der Schnitte darf nur mit Glasstäbchen erfolgen.

Resultat: Bindegewebsfibrillen und Gitterfasern heben sich tiefschwarz von dem nur leicht gelblich gefärbten übrigen Gewebe außerordentlich scharf ab. Breite Bindegewebsbündel sind meist in mehr braunviolettem Ton gefärbt.

Am besten gelingt die Methode nach Formol- und Alkoholfixierung. Bei Objekten, die mit Chromsalzen fixiert wurden, erlebt man häufig Mißerfolge.

803. Herstellung der ammoniakalischen Silberlösung: Man setzt zu 10 ccm einer 10%igen Silbernitratlösung

5 Tropfen reinster 40%iger Natronlauge, wobei sich ein schwarzbrauner Niederschlag von Silberoxyd bildet. Hierauf wird unter stetem Umschütteln der Silberlösung, die man am besten in einem kleinen Erlenmeyerschen Kölbchen hat, tropfenweise solange Ammoniak zugesetzt, bis der Niederschlag bis auf ein paar Körnchen gelöst ist. Dann füllt man mit dest. Wasser auf 20 ccm auf. Ein Überschuß an Ammoniak ist peinlich zu vermeiden. Die Lösung enthält ammoniakalisches Silberoxyd und -nitrat.

804. Schlemmer wäscht den Silberoxydniederschlag aus, indem er ihn absitzen läßt, die darüberstehende Flüssigkeit abgießt, wieder mit dest. Wasser auffüllt und dieses solange wiederholt, bis das Waschwasser nicht mehr alkalisch reagiert. Zuletzt löst er den Niederschlag in möglichst wenig Ammoniak und verdünnt vor Gebrauch mit 10 Teilen Wasser.

Weitere Modifikationen s. § 807, 4; 984 u. 987.

805. Anwendung der Bielschowsky-Methode auf **Paraffinschnitte** von formolfixiertem Material. In diesem Falle läßt man die Schnitte vor der Paraffinentfernung auf den einzelnen Lösungen schwimmen, fischt sie zuletzt mit reinen Objektträgern heraus und behandelt sie wie mit Wasser aufgeklebte Schnitte weiter. Man erwärmt die Lösungen am besten auf 35° C und verlängert die Zeitdauer, also: 2%ige Silbernitratlösung, 24—48 Stunden, ammoniakalische Silberlösung mindestens ½ Stunde. Ebenso lange Reduktion in Formol; Goldchloridlösung (1%ig) 1 Stunde, Fixiernatron (5%ig) 2 Minuten

Ganz ähnlich imprägniert man aufgeklebte Paraffinschnitte nach Paraffinbefreiung.

806. Stückimprägnierung. Dazu überträgt Bielschowsky in einer neueren Methode die nicht zu großen formolfixierten Stücke nach kurzem Auswässern für 3—4 Tage in reines **Pyridin** (Merck). Nach mehrstündigem Auswaschen in mehrfach erneuertem dest. Wasser (bis Pyridingeruch verschwunden) imprägniert man in 3%iger $AgNO_3$-Lösung bei 37° 3—5 Tage. Dann kurzes Auswaschen in dest. Wasser und Einlegen in die in § 803 angegebene Silberlösung, die man auf das Fünffache mit dest. Wasser verdünnt und mit einigen Tropfen Ammoniak versetzt. Nach 24 Stunden wässert man 2 Stunden in mehrfach erneuertem dest. Wasser, reduziert in 20% Formol, entwässert in steigendem Alkohol und bettet in Paraffin ein. Die Vergoldung erfolgt am Schnitt.

807. Besser verfährt man nach den Vorschriften Agduhrs, bei deren genauer Befolgung man sehr schöne Resultate erzielt: 1. Fixierung in schwach saurem (nicht alkalischem) Formalin (1 Teil For-

malin + 1 Teil Wasser, also 50%ige Formalinlösung = 20%iger Formaldehydlösung); am besten fixiert man durch Injektion des tief narkotisierten Tieres vom Herzen aus (linke Kammer; zuerst Durchspülen mit warmer physiologischer Kochsalzlösung 12 cm hoher Druck). Dauer: 5 Tage.

2. Hierauf wird zur Entfernung des reduzierenden Formols und anderer reduzierender Substanzen sehr sorgfältig in dest. Wasser ausgewaschen. In den meisten Fällen genügt es, die in 1—3 ccm große Würfel zerlegten Organteile 7 Tage lang in dest. Wasser, das täglich 1—2mal erneuert wird, auszuwaschen (durch das Auswaschen wird unter anderem auch die bei Befolgung der Bielschowsky-schen Vorschrift auftretende Krustenbildung vermieden).

3. Übertragen in das 3—4fache Volumen einer 3%igen Silbernitratlösung auf 6 Tage (im Dunkeln bei Zimmertemperatur).

4. Abspülen in wiederholt erneuertem dest. Wasser und Einlegen in die ammoniakalische Silberlösung, welche folgendermaßen hergestellt wird: Zu 10 ccm einer 10%igen $AgNO_3$-Lösung setzt man unter Umrühren 20 Tropfen einer 25%igen Natronlauge (Gewichtsprozent; 1 Tropfen = 0,096 ccm). Dann verdünnt man mit 200 ccm dest. Wasser und setzt tropfenweise unter fleißigem Umrühren solange Ammoniak zu, bis der Niederschlag bis auf einen geringen Rest gelöst ist. In diese Lösung kommen die Blöcke für 20 Stunden. (Das Volumen der Flüssigkeit soll das 8—9fache der Organe betragen.)

5. Dann 1 Stunde in reines dest. Wasser. (Will man dagegen nur die Nerven darstellen, dann bringt man die Stücke vorher in dest. Wasser, dem auf 100 ccm 10 Tropfen Eisessig (1 Tropfen = 0,2 ccm) zugesetzt werden, Dauer 1 Stunde; nach ½ Stunde erneuern. Unter Umständen muß man den Eisessigzusatz und die Dauer der Einwirkung erhöhen, z. B. bis zu 50 Tropfen und 18 Stunden. Hier ist jedoch Vorsicht nötig, da sonst die feinen Äste mit den Endigungen unsichtbar werden; vgl. auch § 986.)

6. Übertragen in 20%ige neutrale oder schwach alkalische Formaldehydlösung (s. o.). Das Neutralisieren erfolgt mit NaOH. Indikator: Lackmuspapier. Verdünnen des Formalins mit Brunnenwasser. Für jeden Block 100 ccm der Lösung. Dauer 4 Tage. Nach dem 1. Tag wird erneuert.

7. Einbettung in Paraffin in gewöhnlicher Weise. Die Vergoldung und Fixierung erfolgt am Schnitt.

808. Sehr wichtig ist auch die **Tannin-Silber-Methode von Achúcarro.**

1. Fixierung in 10%iger Formollösung (nicht über 1 Jahr). Gefrierschnitte von 10—20 μ. Kurzes Auswaschen in dest. Wasser.

(Man kann auch Paraffin- oder Zelloidinschnitte von anders fixiertem Material verwenden; unbrauchbar sind jedoch Fixierungsflüssigkeiten, die Metallsalze (besonders Chromate) enthalten.)

2. Erwärmen der Schnitte in kalt gesättigter Tanninlösung, 15 Minuten oder länger bei 50° C. Man nimmt am besten das zu 50% in Wasser lösliche Acid. tannic. leviss. puriss. Merck D. A. V. (das schwerer lösliche Tannin D. A. IV ist unbrauchbar).

3. Nach dem Erkalten Auswaschen jedes einzelnen Schnittes in dest. Wasser, bis er durch Abgabe des freien Tannins wieder undurchsichtig geworden ist, und Überführen in 20 ccm dest. Wasser, dem 8—12 Tropfen der ammoniakalischen Silberlösung nach Bielschowsky (siehe § 803) zugefügt sind. Hier wird der Schnitt mit einer Glasnadel so lange hin- und herbewegt, bis er unter Abgabe von brauner Farbe gebräunt ist. Der Grad der notwendigen Bräunung ist für verschiedene Organe verschieden.

4. Direktes Übertragen in 10%ige Formollösung (Ranke, Achúcarro wäscht dazwischen kurz in dest. Wasser aus).

5. Auswaschen ev. Kern- oder Protoplasmafärbung (besonders mit Eosin, Methylenazur), steigender Alkohol, Xylol, Balsam. Bei richtiger Technik erscheinen an solchen Präparaten auch die feinsten Fasern scharf schwarzbraun gefärbt.

809. Nach Ranke ist es gut, die Schnitte vor der Färbung einige Zeit (ca. 8 Tage) in 80%igen Alkohol zu legen, der einige Korkstücke enthält. Hierauf werden sie in Brunnenwasser abgespült, 8—12 Stunden oder länger in 10%iges Formol eingelegt, kurz gewässert und nach § 808 weiter behandelt.

810. Empfehlenswert ist die Modifikation von Klarfeld. 1. 10—15 μ dicke Zelloidinschnitte kommen zunächst 24 Stunden in 10%iges Formol. 2. Nach Abspülen in Wasser werden sie 20—30 Minuten in einer kaltgesättigten Tanninlösung (Ac. tann. puriss. leviss. Merck) über der Spiritusflamme erhitzt oder 2—3 Stunden bei 50° C gehalten. 3. Nach Erkalten der Lösung werden die Schnitte so lange mit dest. Wasser gewaschen, bis sie un-

durchsichtig sind. 4. Einlegen in die folgendermaßen bereitete ammoniakalische Silberlösung: Zu 5 ccm einer 10%igen Silbernitratlösung wird tropfenweise Ammoniak zugesetzt, bis der gebildete Niederschlag wieder gelöst ist. Hierauf wird noch ein Überschuß von 5—10 Tropfen Ammoniak zugefügt (wichtig!) und mit dest. Wasser auf 20 ccm aufgefüllt. Von dieser Lösung werden 15 Tropfen auf 20 ccm dest. Wasser vermischt und darin die Schnitte mit einem Glasstäbchen so lange ständig hin- und herbewegt, bis sie bräunlichgelb sind. Am besten nimmt man dazu zwei Schalen. Die Schnitte dürfen nicht zu braun werden. 5. Direktes Übertragen in 10%iges Formol für 5 Minuten, wobei die Schnitte dunkelbraun-schwarz werden. 6. Auswaschen in fließendem Wasser, zuletzt in dest. Wasser. 7. Differenzieren der Schnitte in: 0,5%igem wässerigem Ferrozyankalium 100 ccm + 96%iger Alkohol 50 ccm. 8. Halbstündiges Auswaschen in dest. Wasser. 9. Alkohol, Xylol, Balsam. (Nach Spielmeyer 14).

811. Recht gute Resultate lassen sich auch mit einer von Krause (11) angegebenen **Goldchlorid-Jodjodkalium-Methode** erzielen, die an Schnitten von frischem wie von konserviertem Material ausgeführt werden kann. Die Schnitte kommen für 30 Minuten in Jodjodkalilösung (1 : 2 : 300), die zur Hälfte mit Wasser verdünnt wird. Die stark rotbraun gefärbten Schnitte werden in Wasser kurz abgespült und für 30 Minuten in 0,2%iges Goldchlorid gelegt, in dem sie nach anfänglicher Entfärbung gelb werden. Nach gründlichem Abspülen wird 1—2 Stunden lang in einer 2%igen Resorzinlösung reduziert. Dann Abspülen und Übertragen in 5%ige Natriumthiosulfatlösung. Nach 15—30 Minuten gründliches Wässern usw.

812. Um **Bindegewebsfibrillen und Plastosomen** gleichzeitig darzustellen, fixiert Frederikse (17) nach Altmann oder Benda, färbt dann mit Anilinwasser-Säurefuchsin und differenziert mit alkoh. Pikrinsäure (vgl. § 555). Hierauf färbt man mit einer Mischung von 9 Teilen gesättigter alkoh. Pikrinsäurelösung und 1 Teil einer Lösung von Naphtholschwarz B (1 g auf 80 ccm Wasser und 20 ccm Glyzerin). Resultat: Plastosomen rot, Bindegewebsfibrillen blau.

813. Sehr schwierig ist meist die Bearbeitung von **Sehnengewebe.** M. Heidenhain (13) trocknet für Kurszwecke die Sehnen, fertigt Rasiermesserschnitte an und färbt die in Wasser gebrachten wieder aufquellenden Schnitte mit Rutheniumrot.

b) Färbung des elastischen Gewebes.

814. Die beste Färbemethode elastischer Fasern ist die mit **Resorzin-Fuchsin nach Weigert.** Sie gelingt nach allen üblichen Fixierungen.

Herstellung der Farblösung: In 200 ccm einer 1%igen wässerigen Fuchsinlösung (nicht Fuchsin S!!) werden 4 g Resorzin gelöst. Die Lösung wird in einer Porzellanschale zum Kochen gebracht, dann setzt man 25 ccm Liquor ferri sesquichlorati (D. A. III spez. Gew. 1,1; s. a. § 364) zu und kocht unter Umrühren noch 2—5 Minuten weiter. Nach Erkalten wird filtriert. Der dabei erhaltene Niederschlag wird mit dem Filter in die vorher benützte Porzellanschale gebracht, um den in der Schale allenfalls noch zurückgebliebenen Niederschlag ebenfalls noch mit zu verwenden. Das Ganze wird dann unter stetem Umrühren nach Zusatz von 200 ccm 95%igen Alkohols gekocht, wobei man das Filtrierpapier stückweise entfernt. Nach Erkalten filtriert man, füllt das Filtrat mit 95%igem Alkohol auf 200 ccm auf und setzt 4 ccm Salzsäure hinzu. Bei dieser Behandlung des Fuchsins entsteht nach Weigert ein neuer Farbstoff, der in Alkohol löslich, in Wasser dagegen unlöslich ist.

Der Farbstoff ist als Resorzin-Fuchsin oder Kresofuchsin bei Grübler auch in Trockensubstanz käuflich. Man löst zum Gebrauch 4—5 g desselben in 200 ccm 96%igem Alkohol und setzt 4 ccm Salzsäure zu.

Die Lösung bewahrt ihre volle Färbekraft nur 4 bis 5 Wochen. Zur Färbung werden die Schnitte 20 bis 60 Minuten in die Farblösung gestellt und dann solange in 95%igem Alkohol belassen, bis die elastischen Fasern dunkelblau, fast schwarz auf grauem, beinahe farblosem Grunde erscheinen. Die Kerne sind ungefärbt; zweckmäßig färbt man sie vorher mit Karmin. Zuletzt abs. Alkohol, Xylol, Balsam (nicht Karbolxylol).

815. Man kann die Präparate auch mehrere Stunden in der Farbe lassen, muß aber mindestens ebensolange mit 96%igem Alkohol auswaschen. Bei starker Überfärbung differenziert man mit Salzsäure-Alkohol. In diesem Falle muß man nachher die Präparate sehr sorgfältig mit Alkohol auswaschen.

816. Die Methode von **Hornowsky** ist eine Kombination der Resorzin-Fuchsin-Färbung mit der van Giesonschen Methode. Bei ihr färbt sich elastisches Gewebe braunschwarz, glatte Muskulatur gelb, kollagenes Bindegewebe rot. Die Haltbarkeit ist wie bei der van Giesonschen Methode. Man benutzt folgende Lösungen: I. Hämatoxylin crist. 0,2 g; Resorzinfuchsin 0,02 g; 70%iger Alkohol 100 ccm. II. Ligu. ferri sesquichlor. 1 ccm; Salz-

säure conc., chemisch rein 2 ccm. Zur Färbung gibt man auf 5 ccm der Lösung I einen Tropfen der Lösung II und färbt 12—24 Stunden. Dann gut auswaschen in Wasser und ½ Minute färben in Lösung III: Fuchsin S 0,1 g; gesättigte wässerige Pikrinsäure 100 ccm. Dann Abtrocknen mit Filtrierpapier, 96%iger Alkohol, abs. Alkohol, Xylol, Balsam.

817. Zur gleichzeitigen Darstellung von **elastischen Fasern** und **Fett** färbt man nach der Methode von B. Fischer formolfixierte Gefrierschnitte mit folgender Lösung: Weigerts Resorzin-Fuchsin-Lösung 74 ccm + dest. Wasser 26 ccm. Darin löst man unter Kochen Scharlach R. im Überschuß, läßt abkühlen und filtriert. Man färbt eine Stunde in gut gedeckter Schale, differenziert 15 Minuten in einer heiß gesättigten Lösung von Scharlach R in 70%igem Alkohol (zudecken), spült mit 70%igem Alkohol ab und bettet in Glyzerin ein.

818. Nicht so scharf als bei Resorzin-Fuchsin ist die Färbung bei der **Orcein-Methode** (Taenzer-Unna):

Die Orzeinlösung (Orcein 0,5 g; 95%iger Alkohol 100 ccm; dest. Wasser 25 ccm) wird zur Hälfte mit Salzsäure-Alkohol verdünnt (0,5 ccm Salzsäure, 100 ccm 95%iger Alkohol, 25 ccm dest. Wasser). Darin färbt man die am besten nicht aufgeklebten Schnitte 24 Stunden, differenziert kurz in angesäuertem 95%igem Alkohol (ev. noch Kernfärbung mit Karmin-Hämatoxylin oder Methylenblau), abs. Alkohol, Xylol, Balsam.

Resultat: Die elastischen Fasern sind braunschwarz gefärbt, das kollagene Gewebe ist beinahe farblos.

819. Pranther setzt die Orceinlösung folgendermaßen zusammen: Orcein D (Grübler) 0,1 g; offiz. Salpetersäure 2 ccm; 70%iger Alkohol 100 ccm; Färbezeit 8—24 Stunden. Oder Orcein 1 g; offiz. Salpetersäure 5 ccm; 70%iger Alkohol 100 ccm; Färbezeit ½—1 Stunde.

820. Benda läßt eine gesättigte Stammlösung von Orcein in 90%igen Alkohol bei Luftzutritt ein paar Wochen am Licht reifen. Zur Färbung tropft man von dieser unfiltrierten, gereiften Lösung soviel in eine 1%ige Salzsäurelösung von 70%igem Alkohol, bis die Mischung weinrot wird. Man färbt 12—24 Stunden. Bei ev. Überfärbung differenziert man in obigem Salzsäurealkohol. (Ganz ähnlich färbt Savini.)

821. Zur Darstellung von **Fettgewebe** benütze man die in § 566 bis § 593 angegebenen Methoden. Geeignetes Material findet man in der Subkutis, ferner im Mesenterium kleiner Tiere.

17. Kapitel. **Untersuchung des Knorpels.**

822. Zur Herstellung eines frischen Präparates von **hyalinem Knorpel** eignet sich besonders der knorpelige Teil des Epi- oder Hyposternums oder der Scapula des Frosches, ferner der Knorpel des proc. xiphoideus kleiner Säuger. Man untersucht wie gewöhnlich in einer indifferenten Flüssigkeit. Etwa anhaftende Weichteile reibt man mit einem Leinenläppchen ab. (Vgl. auch Brodersen 14 und 15.)

823. Aus größeren Knorpelstücken kann man mit dem Rasiermesser ziemlich leicht dünne Schnitte herstellen, die man dann ebenfalls in einer indifferenten Flüssigkeit untersucht.

824. Das gleiche gilt von **elastischem Knorpel** (Epiglottis, Ohrmuschel). Sehr gut läßt er sich auch an den Rändern der Ohrmuschel einer Maus (nach Entfernung der beiden Hautlamellen) untersuchen.

825. Unter den Hämatoxylinlösungen färbt für Übersichtsbilder besonders das Ehrlichsche und Böhmersche Hämatoxylin die basochrome Knorpelgrundsubstanz ziemlich stark blau.

826. Eine sehr kontrastreiche Knorpel- und Bindegewebsfärbung erhält man nach folgender Methode (Romeis 11): 1. Vorfärben mit Lithionkarmin, ev. Differenzieren in Salzsäure-Alkohol, Auswaschen. 2. Färben in stark verdünnter Methylenblaulösung (von einer konzentrierten wässerigen Lösung 1—3 Tropfen auf 100 ccm Wasser), welche, frisch bereitet, mit 20 Tropfen einer 0,5%igen Salzsäurelösung angesäuert wird (bei 100 ccm) Dauer 12—24 Stunden. 3. Abspülen in Wasser und Fixieren in 5%iger Ammoniummolybdatlösung (2—3 Stunden). 4. Einige Minuten Auswaschen in fließendem Wasser, rasches Übertragen in abs. Alkohol. 5. 1—3 Minuten in Chromotrop 2R (konzentrierte Lösung in 95%igem Alkohol). 6. Kurz abs. Alkohol. Xylol. Resultat: Knorpel leuchtend blau, Kerne violett bis rot, kollagenes Gewebe, Muskel usw. hellrot, Fibrillenbündel und osteogenes Gewebe leuchtend rot.

827. Schöne Farbkontraste gibt auch folgende Färbung (Romeis 11): 1. Färben in einer hellblauen Lösung von Bleu de Lyon in abs. Alkohol (auf 100 ccm 1—2 Tropfen Jodtinktur) 24 Stunden. 2. Durch 70%igen Alkohol rasch in Mucikarmin (s. § 1139), das man zur Färbung mit 3 Teilen 70%igen Alkohols verdünnt; 24 Stunden. Dann abs. Alkohol,

Xylol, Balsam. Resultat: Knorpel karmoisinrot, Knochen, Bindegewebe blau. Man kann auch noch mit Lithionkarmin die Kerne vorfärben.

828. Auch durch Toluidinblau (z. B. bei Methode § 440 oder 449) wird der hyaline Knorpel stark tingiert.

829. Hansen (98b, 05) beschreibt im hyalinen Knorpel der Wirbeltiere feine Bindegewebsfibrillen in der hyalinen Grundsubstanz. Die Basophilie des Knorpels rührt von der im **Chondromucoid** vorhandenen **Chondroitinschwefelsäure** her. Das Chondromucoid umhüllt die Fibrillen so, daß sie unsichtbar, maskiert sind. Entfernt man die Chondroitinschwefelsäure aus einem unfixierten oder besser fixierten Knorpelschnitte durch sehr vorsichtige Behandlung mit Alkalien, so läßt sich mit Hansens Bindegewebsfärbung (siehe § 454) alles Kollagen (Bindegewebsfibrillen) im Knorpel färben; es wird demaskiert.

830. In fixierten Schnitten, besonders nach Formol oder Formol-Alkohol, löst sich das Chondromucoid in Barytwasser, Barytwasser und 10%ige Kochsalzlösung zu gleichen Volumteilen, in Kalkwasser und besonders gut in dünner Kalilauge, welche, wenn die Schnitte gut und lange fixierten Objekten entnommen sind, nicht besonders destruierend einwirkt. Hansen (05).

831. Von Weichteilen gesäuberte hyaline Knorpelscheiben, z. B. der Patella oder den Kondylen entnommen, lasse man 3—7 Tage in einer mittelstarken Lösung von Kalium hypermanganicum oder in einer 10%igen Kochsalzlösung mazerieren. Die erstere wechsle man 4—6mal täglich. Die hyaline Grundsubstanz zerfällt dann in sehr feine Fibrillen, welche den Bindegewebsfibrillen gleichen (Tillmanns).

832. Knorpel der Kephalopoden zeigt **verzweigte Knorpelzellen,** welche miteinander anastomosieren. Nach Chatin kommen verzweigte Knorpelzellen in der Sclera von Gecko, Lacerta und Cameleon, sowie in der Cartilago cricoidea des Dachses vor.

833. Um das Fasernetz des **elastischen Knorpels** darzustellen, färbe man mit **Resorzinfuchsin** (§ 814) oder **Orcein** (§ 818). An gewöhnlichen Hämalaun-Eosinpräparaten sieht man nur wenig davon.

834. Legt man die Schnitte in sehr dünne Jodlösung, dann färben sich die Netze rasch braun. Dabei färbt sich auch etwaiges in den Knorpelzellen vorhandenes Glykogen mahagonibraun. Seine Färbung verschwindet aber beim Erwärmen wieder.

835. Zur gleichzeitigen Färbung von **Glykogen** und **Fett** (im Rippenknorpel) färbt Zaccarini (10) Schnitte

von Flemmingpräparaten zuerst nach Best (s. § 889) und dann nach M. Heidenhain.

836. Färbt man dünne Schnitte mit einer wässerigen Fuchsinlösung, wäscht dann dieselben längere Zeit in Alkohol aus und überträgt sie nach den allgemeinen Regeln in Kanadabalsam, so erscheinen die Netze intensiv rot, das übrige, außer den Kernen, farblos.

837. Knorpel von älteren Individuen, namentlich Rippenknorpel, Larynx- und Trachealknorpel zeigen Kalkeinlagerungen und müssen daher nach der Fixierung z. T. entkalkt werden. Mit dem Gefriermikrotom läßt sich zwar auch ziemlich stark kalkhaltiger Knorpel noch ganz gut schneiden. Bei Färbung mit Hämalaun od. dgl. färben sich die kalkhaltigen Stellen tief dunkelblau. Langdauernde Einwirkung von chromsauren Salzen beraubt den unverkalkten Knorpel nach Pommer (85) seiner Färbbarkeit mit Hämatoxylin, der verkalkte behält sie.

838. Das Aufkleben knorpelhaltiger Paraffinschnitte macht wegen der leicht auftretenden Falten oft Schwierigkeiten, namentlich wenn sie etwas dick sind. Man läßt die Schnitte in diesem Fall am besten auf einer Schale mit destilliertem Wasser schwimmen, das man so weit als möglich erhitzt; (ein Schmelzen des Paraffins darf natürlich nicht eintreten); läßt man dann wieder etwas abkühlen, so kommt auf einmal der Augenblick, in welchem sich der Schnitt völlig streckt.

839. Bindegewebsknorpel findet man in den Zwischenwirbelscheiben, ferner im Lig. teres. Man fixiert in der Flüssigkeit von Orth, Zenker, Held oder in Formol. Färbung nach Hansen, Mallory, mit Pikroblauschwarz-Karmin od. dgl.

840. Um **embryonale Knorpelskeletteile** oder ganze Embryonen als Übersichtsbilder zu montieren, verfährt Lundvall, wie folgt: a) Fixierung in 10%igem Formol, 48 Stunden und darüber, b) Behandlung mit 95%igem Spiritus, ebensolange, c) Färbung in Toluidinblau bei 40° C (man löse 0,25 g Toluidin in 100 ccm einer ½%igen Lösung von Salzsäure in 70%igem Alkohol, füge nach erfolgter Lösung noch 0,5 ccm Salzsäure hinzu und filtriere nach 24 Stunden), d) Entfärbung in 0,25%iger oft zu wechselnder Salzsäure in 70%igem Spiritus bei 40° C, e) Entsäuern in oft zu wechselndem 95%igem Alkohol, f) Abs. Alkohol etc. Statt Xylol nehme man für diesen Zweck Benzol.

841. Färbung mit Methylenblau, Ausziehen des überschüssigen Farbstoffes mit verdünnter Salzsäure, Entwässern und Einlegen in eine Mischung von Benzol-Schwefelwasserstoff geben dieselben Resultate. Lenhossék und Bokay färben mit Bismarckbraun im Stück, ziehen den Farbstoff mit 96%igem Alkohol aus und hellen in Zedernholzöl auf.

842. P. Mayer (16) färbt zur Darstellung des Knorpels in Totalpräparaten mit einem modifizierten Resorzinfuchsin, das man dadurch erhält, daß man den Überschuß an Eisenchlorid, der bei genauer Befolgung der Weigertschen Vorschrift (s. § 814) in der alkoholischen Lösung verbleiben würde, vorher auf dem Filter aus dem Niederschlag sorgfältigst mit Wasser fortwäschst und dann den letzteren in saurem Alkohol löst. Man färbt bis zu mehreren Tagen und wäscht dann in 70%igem Alkohol aus, bis nur mehr der Knorpel gefärbt ist. Die elastischen Fasern sind ungefärbt.

Ältere Literatur zu Kap. 17 Flesch 80; neuere: Hansen 05.

18. Kapitel. Untersuchung von Knochen und Zähnen.

1. Entkalkung.

Allgemeine Bemerkungen.

843. Will man Knochen- oder Zahngewebe schnittfähig machen, so muß man die in seine Grundsubstanz eingelagerten Kalksalze entfernen; man bezeichnet diesen Prozeß als **„Entkalken“**. Man behandelt dazu das betreffende Gewebe mit Säuren, welche an Stelle der Säuren der Kalksalze im Knochen treten. Unter Freiwerden dieser Säuren entstehen neue Verbindungen, die aber in Wasser resp. Spiritus löslich sind. Auf diesem Prinzip beruht die Entkalkung.

844. Der Entkalkung hat eine gute gründliche Fixierung vorauszugehen. Nur bei einigen Mitteln erfolgt Fixierung und Entkalkung gleichzeitig. Am besten führt man die Objekte vor der Entkalkung sogar bis zum 96%igen Alkohol und dann wieder zurück in Wasser. Die Fixierungsflüssigkeit ist durch Auswaschen gut zu entfernen, da sonst durch die nachfolgende Säurebehandlung unter Umständen Niederschläge hervorgerufen werden können.

845. Die Entkalkung nimmt man in reichlichen Flüssigkeitsmengen vor, die man öfters wechselt; es ist oft zweckmäßig, das Objekt in der Flüssigkeit an einem Faden aufzuhängen, so daß die gelösten Salze zu Boden sinken können. Der richtige Grad der Entkalkung ist erreicht, wenn die Knochen ganz weich und biegsam geworden sind und sich mit dem Messer ohne Knirschen schneiden lassen.

Für manche Untersuchungen (besonders auf pathologischem Gebiet) ist es von Wert, die Kalksalze aus dem Knochen nicht völlig zu entfernen. Die Zeitdauer richtet sich nach der angewandten Flüssigkeit, der Konzentration derselben, Temperatur usw. und beansprucht oft Wochen.

846. Nach der Entkalkung muß die Säure sorgfältig ausgewaschen werden. Dies erfolgt bei verschiedenen Entkalkungsflüssigkeiten wie Trichloressigsäure, Pikrinsäure durch Alkohol, bei anderen durch Wasser. Bei letzterem setzt man häufig, um Quellungen zu vermeiden, dem Waschwasser quellungshindernde Substanzen, wie Alaun, zu.

847. Als Einbettungsmittel ist die Zelloidinmethode dem Paraffinverfahren meist vorzuziehen.

848. Schaffer (03) empfiehlt, die Objekte vor der Entkalkung in Zelloidin einzuschließen, den in 85%igem Alkohol gehärteten Zelloidinblock zur Verdrängung des Alkohols in Wasser zu bringen und dann nach § 887 zu entkalken.

849. Zellstrukturen und Färbbarkeit werden bei Anwendung von Pikrinsäure (s. § 852), Trichloressigsäure (s. § 853) oder schwefliger Säure (s. § 850) am besten erhalten. Zur Darstellung der Knochenfibrillen und Primitivröhrchen empfiehlt sich dagegen am meisten die Ebnersche Methode mit Kochsalz-Salzsäure (s. § 855) und die Salpetersäure (§ 857). S. insbesondere Schaffer (03, 10).

Entkalkungsflüssigkeiten.

850. Zur Entkalkung in **schwefliger Säure** bringt man vorher gut fixierte Knochen (bei größeren am zweckmäßigsten Formolfixierung) auf kürzere oder längere Zeit in gesättigte wässerige schweflige Säure mit ca. 5% Säuregehalt. Nach der Entkalkung wird ebensolange in fließendem Wasser gewaschen, in allmählich steigendem Alkohol nachbehandelt und in Zelloidin eingebettet.

Die Dauer der Entkalkung beträgt z. B. für den Humerus eines ausgewachsenen Meerschweinchens 1—2 Tage, Tritonenextremitäten benötigen nur 2—4 Stunden, größere menschliche Knochen 8 Tage. Kleinere, passend fixierte und nicht länger wie 2—5 Stunden entkalkte Knochen zeigen in ihren Weichteilen die feinsten Zellstrukturen noch gut erhalten. Auch die Färbbarkeit ist unbeeinträchtigt.

851. Die Wirkung der von P. Ziegler (99) eingeführten schwefligen Säure beruht darauf, daß das wasserunlösliche Trikalziumphosphat, das neben dem kohlensauren Kalk die Hauptmasse der anorganischen Bestandteile des Knochens darstellt, unter dem Einfluß der schwefligen Säure in das in Wasser leicht lösliche Monokalziumphosphat umgewandelt wird.

852. Für kleinere Objekte, besonders embryonale Knochen, ist auch die Entkalkung mit konzentrierter wässeriger **Pikrinsäure** zu empfehlen, die die Zellstrukturen und Färbbarkeit sehr gut erhält. Ein Nachteil ist, daß die Entkalkung nur sehr langsam vor sich geht (1—2—3 Monate oder länger). Rascher wirkt **Pikrinsalpetersäure** (vgl. § 165).

853. **Trichloressigsäure** entkalkt in 5%iger wässeriger Lösung ziemlich rasch und fixiert gleichzeitig. Zweckmäßig setzt man 10—20% Formol zu. Die Entkalkung ist nach 1—4 Tagen gewöhnlich genügend. Ausgewaschen wird in 90—96%igem Alkohol, auf keinen Fall in Wasser, da in diesem das Bindegewebe nach dieser Vorbehandlung sehr stark quillt.

854. Für sehr zarte Objekte, also kleine embryonale Knochen oder Knochen von sehr kleinen Tieren, kann man sich auch der **Flemmingschen Lösung** bedienen, die man bis zu 8 Tagen oder auch länger einwirken läßt. Auch Chromsäure allein sowie Müllersche Flüssigkeit wirken entkalkend, allerdings nur sehr langsam.

855. Will man die feinere Struktur der Grundsubstanz und namentlich die der Lamellen, sowie die Primitivröhrchen erhalten, so entkalkt man nach vorausgehender Fixierung in der von v. Ebner (75) vorgeschlagenen wässerigen **Kochsalz-Salzsäurelösung,** die folgendermaßen zusammengesetzt ist:

100 ccm einer kaltgesättigten Kochsalzlösung werden mit 100 ccm Wasser verdünnt und 4 ccm offizin. Salzsäure zugesetzt (für Zähne bis zu 10 und 20 ccm). Während die zu entkalkenden Knochen in dieser Flüssigkeit verweilen, werden täglich 1—2 ccm Salzsäure zugefügt, bis die Knochen biegsam geworden sind. Sodann werden sie einige Tage mit kaltgesättigter wässeriger Kochsalzlösung ausgewaschen. Diese nimmt bald saure Reaktion an, welche durch allmähliches spurweises Zusetzen von verdünnter Ammoniaklösung wieder neutralisiert wird, und zwar so lange, bis aus dem Knochen keine Säure mehr abgeht. Die Flüssigkeit entkalkt sehr langsam, liefert aber gute Resultate. Die dünnen, gut gewässerten Schnitte färbt man am besten mit Gentianaviolett (s. § 747), worauf man mit Anilinöl-Xylol (2 : 3) nach dem Vorgange Benekes differenziert. Dabei färben sich die Grundsubstanzfibrillen von v. Ebner und die Sharpeyschen Fasern.

856. **Salzsäure** allein (offizinelle) ist zur Entkalkung weniger zu empfehlen. Man wendet sie 3—10%ig an; besser ist eine Mischung von 1%iger Salzsäure und 1%iger Chromsäure zu gleichen Teilen (die offizinelle Salzsäure enthält 25%, die rohe 30—35% HCl). Man muß daher zu obiger Lösung

12—40 ccm der offizinellen Salzsäure nehmen. Bei Entkalkung mit Salzsäure wird besonders die Färbbarkeit des Chromatins sehr häufig stark beeinträchtigt.

857. Salpetersäure (Acid. nitric. conc. mit 61% Säuregehalt und 1,40 spez. Gew.) wird hauptsächlich als 5%ige Säure (siehe unten) besonders von Schaffer (03) als rascheste und schonendste Entkalkungsflüssigkeit empfohlen; schüttelt man häufig um, so werden 0,4 g dichtesten Knochens schon in 10 Stunden entkalkt. Nach der Entkalkung behandelt man die Stücke mit 5%iger Alaunlösung oder besser mit 5%iger Lithium- oder Natriumsulfatlösung und wäscht erst dann mit Wasser aus. (Vgl. auch § 846f.)

Da sich die Prozentangabe auf das Gewicht und nicht auf das Volumen bezieht, muß man, um eine 5%ige Säure zu bekommen, 7,5 ccm der Salpetersäure (spez. Gew. 1,40) mit 100 ccm Wasser verdünnen. Bei Verwendung der offizinellen Salpetersäure (spez. Gew. 1,14—1,15) muß man dagegen 17 ccm nehmen.

858. Eine Mischung von Salpetersäure (70 ccm), Formol (50 ccm) und Wasser (1000 ccm) wird auf fixierte Objekte mit guten Resultaten angewandt (Alexander), doch verzögert der Formolzusatz die Entkalkung. Ebenso wirkt Alkoholzusatz, weshalb er nicht zu empfehlen ist. Auch der von Haug angegebene Phloroglucinzusatz ist wegen ähnlicher Wirkung unzweckmäßig. (Phloroglucin 1 g, Salpetersäure 10 ccm [Vorsicht beim Lösen!], dest. Wasser 50 ccm.)

2. Färbemethoden entkalkter Knochen und Zähne.

859. Zum Kalknachweis behandelt man unentkalkte oder nicht ganz entkalkte Schnitte etwa 5 Minuten mit 1%iger Silbernitratlösung, spült mit dest. Wasser ab und überträgt sie für einige Minuten in eine dünne Pyrogallussäurelösung. Dann Abspülen in dest. Wasser, Übertragen in 5%iges Fixiernatron usw. Die kalkhaltigen Stellen treten schwarz hervor.

Aber nicht nur Silber, sondern fast alle Metalle haben Affinität zu verkalkten Geweben; so kann man auch Kupferazetat mit Schwefelammonium oder Eisenchlorid mit Ferrozyankalium mit ähnlichem Erfolg kombinieren.

860. Zur Färbung der vor der Entkalkung kalkhaltigen Teile fixiert Pommer (85) zuerst in Müllerscher Flüssigkeit, entkalkt nach Ebner (§ 855), härtet in steigendem Alkohol und schneidet ohne Einbettung. Die Schnitte kommen 12 bis 18 Stunden in 0,002%ige wässerige Methylviolettlösung (oder in 0,04%ige Dahlia- oder 0,016%ige Safraninlösung); Wässern, Untersuchen in Glyzerin mit geringem Zusatz derselben Farbe.

861. Die Bestsche Glykogenfärbung (§ 598) gibt nach Schmorl (09) an mit wässeriger Salpetersäure oder in Formalinameisensäure entkalkten, mit Natriumsulfit behandelten und gründlich ausgewässerten Gefrierschnitten Rotfärbung der zuvor verkalkten Partien.

862. Die **Knochenhöhlensysteme** und deren Grenzscheiden lassen sich sehr schön nach 2 Methoden von Schmorl darstellen.

Methode A. Beliebig fixierte Knochenstücke (nur nicht in Sublimat) werden in Müllerscher Lösung mit Salpetersäurezusatz, nach § 855 oder § 857, entkalkt; Gefrier- oder Zelloidinschnitte kommen zunächst 10 Minuten in Wasser und werden dann entweder in Karbolthionin nach Nicolle (Karbolwasser 100 ccm + 10 ccm einer gesättigten Thioninlösung in 50%igem Alkohol) oder mit konzentrierter Thioninlösung in 50%igem Alkohol 10 Minuten lang gefärbt. Dann Abspülen in Wasser und Übertragen in gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung für 1 Minute; nach neuerlichem Abspülen differenziert man in 70%igem Alkohol, bis keine Farbwolken mehr abgehen (etwa 5—10 Minuten). 96%iger Alkohol, Karbolxylol, Xylol, Balsam. Wenn die Färbung nicht recht gelingen will, setzt man zum Thionin 1—2 Tropfen Ammoniak. Resultat: Knochenhöhlen dunkelbraun auf hellbraunem Grunde. Zellen rot. Dieselbe Methode ist auch für Zähne verwendbar.

Methode B. Man fixiert dünne Knochenscheiben in Formol, härtet 5—8 Wochen in Müllerscher Flüssigkeit und entkalkt in Salpetersäure oder nach Ebner. Gefrier- oder Zelloidinschnitte färbt man in der oben angegebenen Thioninlösung mit Zusatz von Ammoniak 3 Minuten. Nach Abspülen mit Wasser überträgt man für 1—2 Minuten in 70%igen Alkohol, dann wieder in dest. Wasser und differenziert mit konz. Phosphormolybdän- oder besser Phosphorwolframsäure kurze Zeit (da die Säuren Metall angreifen, arbeite man nur mit Glasinstrumenten). Sodann wäscht man aus, bis die Schnitte hellblau werden (etwa v—10 Minuten), fixiert in einer zur Hälfte mit Wasser derdünnten Formollösung 1—2 Stunden oder in einer ver5ünnten Ammoniaklösung (1 : 10) 5 Minuten und überträgt direkt in 90%igen Alkohol, den man wechselt. Abs. Alkohol, Xylol, Balsam. Ist die Grundsubstanz zu dunkel geraten, so schiebt man vor dem abs. Alkohol 1%igen salzsauren Spiritus ein und wäscht dann gründlich mit

Wasser aus. Resultat: Knochenhöhlen und deren Ausläufer intensiv blauschwarz, Protoplasma und Kerne diffus blau, Grundsubstanz hellblau bis rötlich und purpurrot (bei Müller-Präparaten). Die Lamellengrenzen und Kittlinien sind deutlich zu erkennen.

863. Goetsch färbt Schnitte von fixierten und entkalkten Stücken in 5%igem Neutralrot in Karbolwasser 2—3 Stunden; nach kurzem Abspülen in Wasser werden die Schnitte mit Glasnadeln in eine gesättigte Pikrinsäurelösung und 0,1 Sublimatlösung zu gleichen Teilen auf 2—4 Minuten übertragen, kurz in Wasser abgespült, auf einen Objektträger gelegt, mit Fließpapier getrocknet und in Xylol 3 Teile und Anilinöl 1 Teil differenziert. Diese letzte Prozedur ist die schwierigste, und es ist ratsam, die Resultate unter dem Mikroskop zu beobachten; Xylol, Kanadabalsam. Resultate: Knochen rotgelb, Zellkerne graublau, Knochenhöhlen und ihre Ausläufer mahagonibraun, mit einem Niederschlag ausgefüllt. Man kann auch mit Hämatoxylin vorfärben und statt mit Anilin-Xylol — 5 Minuten mit durch Pikrinsäure gelbgefärbtem Alkohol von 70%, dann 96%igem Alkohol, bis keine Farbteilchen aufsteigen, behandeln, abs. Alkohol usw., Kanadabalsam. Beim Differenzieren mit Anilin-Xylol tritt der fibrilläre Bau des Knochens ebenfalls hervor.

864. Auch eine der Cajalschen Silbermethoden ist zur Darstellung der Knochenkörperchen sehr geeignet. Nach Deineka (14) fixiert man dazu 2—3 Stunden in 12%iger Formollösung, behandelt 3—4 Tage in 1,5—2%iger Silbernitratlösung, dann dest. Wasser, Reduktionsmischung usw. wie bei der Darstellung des Golgi-Apparates (vgl. § 560).

865. Für junge Knochen und Zähne, die in chromsäurehaltigen Flüssigkeiten fixiert und entkalkt waren, empfiehlt **v. Korff** zur **Färbung:** Rubin S 2 g, Orange G 1 g, Glyzerin 7 ccm, Aqua dest. ad 100. Färbung ½ Minute; differenzieren in 95%igem Alkohol. Resultate: Osteoblasten, Knochenzellen und Odontoblasten orange, ebenso ihre Ausläufer; Fibrillen der unverkalkten Grundsubstanz rot, verkalkt gewesene Stellen der letzteren orange oder gelb.

866. Ausgezeichnete Resultate liefert, was die Darstellung der fibrillären Grundsubstanz betrifft, die Bielschowskysche Silbermethode (H. v. Baeyer, Studnička), vgl. § 802. Ebenso lassen sich auch die übrigen, zur Darstellung des fibrillären Bindegewebes angegebenen Methoden mit Vorteil anwenden.

Über die Behandlung des Knochenmarks siehe Kapitel 22.

867. Zum Studium der **Ossifikation** fixiere man als Material Röhrenknochen embryonaler Säugetiere, für Zahnentwicklung Kiefer von Schaf- oder Schweinsembryonen, entkalke und schneide.

868. Zur Färbung dient für Übersichtsbilder eine der bekannten Hämatoxylin-Eosinmethoden. Sehr schöne Kontraste bekommt man bei den in § 826 f. angegebenen Methoden mit Karmin-Methylenblau-Chromotrop oder Mucikarmin-Bleu de Lyon. Auch Toluidinblau oder Gentiana-Violett — Bismarckbraun gibt schöne Kontraste. Knorpelgrundsubstanz ist basophil, Knochengrundsubstanz acidophil.

869. Vermittelst der Doppelfärbung Boraxkarmin-Bleu-de Lyon (s. § 429) färbt sich außer dem Knochengewebe und den Bindegewebsfibrillen auch das entkalkte Dentin. Man kann so die feinsten Ablagerungen desselben nachweisen (Röse 93).

870. Färbt man die zum Studium der Ossifikation bestimmten Präparate mit Hämatoxylin und behandelt dieselben sehr kurze Zeit mit Pikrinsäure, so erzielt man eine sehr instruktive Doppelfärbung, indem die Knorpelsubstanzüberreste blau und die neugebildeten Knochenlamellen gelb bis bräunlich erscheinen (Klaatsch, 87).

871. Sehr übersichtliche Bilder der Ossifikation und Zahnentwicklung erhält man ferner mit der in § 428 angegebenen Karmin-Indigo-Karmin-Fuchsin S-Pikrinsäure-Methode.

872. Zur **Entkalkung und Färbung der Zähne** verwendet man dieselben Methoden wie beim Knochen. Salzsäure, verdünnte Chromsäure und Pikrinsäure lösen jedoch die Schmelzprismen auf, wobei die Kittsubstanz der letzteren zuerst in Lösung tritt (v. Ebner).

873. **Schmelz** junger Zähne färbt sich in Chromsäure und deren Salzen braun, in Osmiumsäure schwarz. Schon in den Schmelzzellen (Adamantoblasten) sieht man Tropfen, die sich mit Osmiumsäure bräunen.

874. Um die Fibrillen des **Dentins** zu sehen, entkalke man einen Zahn in der von Ebner empfohlenen Flüssigkeit (s. § 855); Zähne jugendlicher Individuen sind dazu besonders geeignet. Auch kariöse Zellen liefern mitunter sehr deutliche Bilder.

875. Nach Ebner sind die Dentinfibrillen im Gegensatz zu denjenigen Fibrillen, die man in der Pulpa findet, nicht kollagener Natur.

876. Kleine frische Knochen oder Zähne oder mit der Laubsäge herausgeschnittene Plättchen, die nicht über $^3/_4$ mm dick sein dürfen, kommen auf 24 Stunden in ein Gemisch von 1%iger Goldchloridlösung und reiner Ameisensäure

(2 Vol. : 1 Vol.), werden mit dest. Wasser kurz abgewaschen und auf 24 Stunden in eine Lösung von Gummi arabic. in Glyzerin übertragen. Nach abermaligem Waschen mit dest. Wasser kann mit Zelloidin oder Paraffin durchtränkt werden. Die Schnitte zeigen exakt dunkelviolett gefärbte Primitivröhrchen, resp. Dentinröhrchen in heller Grundsubstanz (Lepkowsky 92).

877. Das **Zement,** und namentlich das zellenarme, enthält eine große Zahl von Sharpeyschen Fasern.

878. Um die **Sharpeyschen** Fasern in entkalkten Knochen oder Zahn darzustellen, bringt Kölliker einen mit konz. Essigsäure durchsichtig gemachten Schnitt sofort auf 15 Sekunden bis 1 Minute in konz. Indigokarmin-Lösung, hierauf in dest. Wasser, Glyzerin oder Kanadabalsam. Die Sharpeyschen Fasern werden blaßrot bis dunkelrot, die übrige Knochensubstanz blau.

879. Weiterhin lassen sich die Sharpeyschen Fasern auch durch die Methode von Bielschowsky oder Achúccaro-Ranke sehr gut darstellen s. ferner § 855.

880. Von nach Krappfütterung rotgefärbten Knochen können Sägeschnitte auf dem Stein oder mit der Feile geschliffen, rasch entwässert und in trockenen Kanadabalsam (§ 891) eingeschlossen werden. — Neutralrot wirkt (nach Retterer 06) verfüttert ebenso wie der Krapp: Der die Blutgefäße berührende Knochen wird rot.

881. Besonders zum Studium der Knochenbildung geeignete **Dauerpräparate durchsichtiger Embryonen** erhält man nach O. Schultze (97), indem man die mit Alkohol mindestens 8 Tage (nicht mit Säuren) fixierten Embryonen in wässerige Lösung von Kalium causticum von 3—5% überträgt (bei größeren Embryonen das Hirn mit Pinzette und kleinem Löffel entfernen und die Bauch- und Brusteingeweide nach einem Medianschnitt durch die Bauchdecken). Sind die Embryonen durchsichtig, so können sie in Glyzerin mit Formolzusatz (Wasser 100, Glyzerin 30, Formol [35%ig] 2) konserviert werden. Vgl. § 841.

882. Zu der in § 464 wiedergegebenen Aufhellungsmethode von Spälteholz mit künstlichem Wintergrünöl, Isafrol etc. färbe man die Knochen zuvor in gesättigter sauerer (Essigsäure tropfenweise zusetzen bis die Lösung hellgelb ist) Lösung von Alizarinum crystallisat. (Grübler) in 95%igem Alkohol. Geringer Zusatz von Alizarinum cyanatum (Grübler) gibt blaustichigere Färbung.

883. P. Mayer (16) löst zum gleichen Zweck 1 g Borax in 100 ccm 35%igen Alkohols und setzt dazu soviel einer 3%igen Lösung von Karminsäure in 90%igem Alkohol, daß die Flüssigkeit sehr hellviolett wird. Darin färbt man formolfixierte, mit Wasserstoffsuperoxyd gebleichte Objekte.

3. Die Untersuchung von unentkalkten Knochen und Zähnen.

884. Will man die Hart- und Weichteile im Zusammenhange untersuchen, ohne die Entkalkung vorher vorzunehmen, so bediene man sich der von v. Koch (78) mit großem Erfolge bei seinen Korallenuntersuchungen angewandten **Versteinerungsmethode.** Diese wurde von Weil für die Herstellung der Zahnschliffe mit Erhaltung der Weichteile angewandt. Zähne oder Knochen werden, nachdem durch geeignetes Absprengen der Hartteile der Zugang zu den Weichteilen gesichert ist, fixiert und nach den allgemeinen Regeln bis zur eventuellen Stückfärbung inkl. behandelt. Dann werden sie durch absoluten Alkohol und Terpentinöl, resp. Chloroform, in eine Mischung von Kanadabalsam und Terpentinöl, resp. Chloroform, übertragen. Durch allmähliches Verdunsten des Chloroforms, resp. Eindicken des Terpentinöls, zumal bei einer höheren Temperatur, was unter Umständen mehrere Wochen in Anspruch nimmt, werden der den Zahn imprägnierende Kanadabalsam und die Umgebung steinhart. Röse (92) empfiehlt, die Präparate im Wärmofen bei 50° C trocknen zu lassen, wozu etwa 3—4 Monate nötig sind. Man kann, ohne Schrumpfung befürchten zu müssen, am Schlusse etwas rascher eindampfen, nur muß man bei Beginn des Eindampfens möglichst geringe Temperaturgrade wählen. Dann kann das Ganze nach denselben Regeln geschliffen werden wie die Hartgebilde allein.

885. Will man die **Hartgebilde allein** untersuchen, so wähle man ganz dünne Knochenlamellen: Nasenmuscheln und Siebbeinzellenwände usw. kleinerer Tiere liefern solche, die man ohne weiteres, wenigstens bei schwacher Vergrößerung, nachdem man Periost etc. abgeschabt hat, untersuchen kann. Oder man bereite sich mit einem scharfen Knorpelmesser von einem dickeren Knochen eine genügend transparente Lamelle, die ebenfalls ohne weiteres untersucht werden kann.

886. Befreit man dünne Knochenplättchen der Kiemendeckel kleiner Fische durch Schaben mit einem Skalpell vom umgebenden Bindegewebe und legt dieselben eine Stunde in absoluten Alkohol, so füllen sich die Knochenkörperchen nach Ewald (97) mit Luft (Gas) und können dann durch Nelkenöl in Kanadabalsam (auch den gewöhnlichen Xylol-Kanadabalsam) übertragen werden.

887. Will man aber ausgedehntere Territorien, einen dickeren Knochen studieren und namentlich die Verbreitung der Hohlräume im Zahn und Knochen zur Darstellung bringen, so stelle man **Schliffe** her, indem man

folgendermaßen verfährt: Man wähle alte, gut mazerierte und möglichst fettarme Knochen. Aus den Hohlräumen dieser Knochen ist durch die kombinierte Wirkung der Fäulnis und Austrocknung fast die ganze organische Substanz entfernt, und die kleinsten Hohlräume im Knochen, auch Primitivröhrchen, sind mit Luft gefüllt.

In gewöhnlicher Weise mazerierte Knochen sind nicht geeignet, vielmehr wähle man verweste, im Lauf der Jahre vom Regen ausgewaschene alte Knochen, wie man sie in Abdeckereien etc. findet. Mit neueren Mazerationsapparaten werden die Knochen so vollkommen entfettet, daß sie nach dem Trockenwerden ohne weiteres für diese Zwecke zu benutzen sind.

Man bereite sich durch zwei parallele Schnitte, vermittelst einer Laubsäge z. B., eine dünne Lamelle, die man einer Region im Knochen entnimmt, welche man gerade studieren will; man beginnt mit Quer- und Längsschliffen. Auf einem harten und planen Schleifstein oder zwischen zwei solchen werden die Flächen möglichst eben gemacht. Der von Busch, Gebhardt 00, Schaffer 10 u. a. empfohlene Gebrauch von gröberen und feineren Feilen gestattet rasches und sauberes Arbeiten. Die eine Fläche wird auf einer matten Glasplatte poliert. Der Knochen wird gewaschen und getrocknet und die fertig polierte Fläche auf eine dicke, mit abgeschliffenen Rändern versehene Glasplatte, welche sich leichter mit der Hand fassen läßt als der dünne Schliff allein, oder einen Objektträger mit Kanadabalsam befestigt, indem man auf der Glasplatte ein Stück **festen Kanadabalsams** (Grübler) durch Erwärmen über der Flamme flüssig macht, den Schliff auflegt und darauf achtet, daß zwischen Schliff und Glasplatte keine Luftblasen verbleiben. Nun kann die andere Fläche auf einem Schleifstein geschliffen werden, bis die Lamelle eine sehr dünne wird.

Ist das Knochenstück nicht genügend auf der Glasplatte mit Kanadabalsam befestigt gewesen, was man an den glänzenden Luftblasen zwischen dem Schliff und der Glasplatte erkennt, so pflegt der Schliff gerade zu der Zeit, wenn er anfängt brauchbar zu werden, zu zerbrechen.

888. Man kann sich auch in der Weise den Schliff anfertigen, daß man ihn, ihn auf eine Schleifsteinplatte einfach mit dem Finger oder mit einem Stückchen Kork andrückend, von der einen und dann von der anderen Seite abreibt, bis er genügend dünn, durchscheinend wird. Diese Methode ist keine sichere, und namentlich der An-

fänger mache sich auf viel Materialverlust gefaßt. Die Methoden des Schleifens sind namentlich von den Mineralogen ausgebildet worden, und man kann, wie gesagt, auch sehr harte Gebilde, Minerale, Gehäuse von Mollusken etc., nach ihnen schleifen, nur daß man, je nach der Härte, entweder härtere Steine, Schmirgel oder gar Demantpulver anwendet.

Große, gleichmäßig dünne Schliffe ohne Sprünge und Spalten wird man ohne maschinelle Vorrichtungen (rotierende Steine des Mineralogen etc.) nur mit der größten Übung erzielen können.

889. Aus freier Hand angeschliffene Zähne (resp. Knochen) werden in eine alkoholische, mit Benzol geklärte Lösung von ungebleichtem Schellack, dem, um saure Reaktion zu vermeiden, etwas Natriumkarbonat zugesetzt wurde, auf 24 Stunden gebracht. Die Schliffe werden dann mit einem großen Tropfen der Schellacklösung auf Objektträger bei Ofenwärme bis zum Festwerden des Schellacks belassen, fein geschliffen und nach Lösung des Schellacks in Alkohol poliert usw. (v. Ebner 05).

890. Der Schliff kann, nachdem er auf einer Glasplatte poliert worden ist, gleich in Kanadabalsam eingeschlossen werden, indem man die Glasplatte als Objektträger benützt; dieses führt aber im allgemeinen zu keinem Ziele, da die Hohlräume durch den darin enthaltenen Kanadabalsam, welcher annähernd ebenso Licht bricht wie die hell gewordene Grundsubstanz des Knochens, unsichtbar werden. Man löst daher besser die nun sehr vorsichtig zu behandelnde zarte Knochenlamelle mit Chloroform von der Glasplatte ab. Dann reinigt man den Schliff mit Äther oder Xylol, wäscht mit abs. Alkohol, trocknet ihn und betrachtet denselben etwa im Wasser; man sieht in der ersten Zeit außerordentlich deutliche, schwarz gefärbte, mit Luft gefüllte Knochenkörperchen und Primitivröhrchen. Erst allmählich tritt Wasser an Stelle der austretenden Luft ein. Auf dieser Tatsache beruht nun die folgende einfache Darstellung der Primitivröhrchen und Knochenkörperchen.

891. Einschluß des lufthaltigen Schliffes. Man erwärme ein Stückchen festen (durch Grübler zu beziehen) Kanadabalsam auf dem Objektträger, bis es flüssig wird, und nehme entstehende Luftblasen mit einer heißen Nadel weg. Nun lege man den vorher lufttrocken gemachten, weißgewordenen Schliff auf den flüssigen Kanadabalsam und bedecke rasch mit einem erwärmten Deckgläschen.

Dabei hat man darauf zu achten, daß besonders auch der Raum zwischen Schliff und Deckgläschen mit Kanadabalsam gefüllt wird, was man eventuell durch Drücken mit der Nadel auf das Deckglas oder Nachwärmen erreichen kann. Der Kanadabalsam erstarrt in der kürzesten Zeit, und es bleibt die Luft in den Knochenräumen gefangen. Die Prozedur gelingt nur, wenn man rasch arbeitet. Man hat so ein Dauerpräparat von Knochenkörperchen und Röhrchen gewonnen.

892. Auch an **Schnitten** durch entkalkte Knochen gewinnt man durch **Eintrocknen,** aber nur an kleinen Bezirken, mit Luft gefüllte Primitivröhrchen und Knochenkörperchen, die man auf dieselbe Weise dauernd einschließen kann. Flemming (86).

893. Man kann bei Schliffen **anstatt** der **Luft** einen geeigneten Farbstoff substituieren, so **Anilinblau** (Ranvier [75]), löslich in Alkohol und unlöslich in Wasser, oder einen anderen, z. B. Methylviolett oder Fuchsin (basisch). — Man legt den lufttrockenen Schliff in eine konzentrierte Lösung von Anilinblau, in Alk. abs., am besten in einem kleinen ca. 5 ccm fassenden Abdampfschälchen, und erwärmt das Ganze langsam, bis der Alkohol verdunstet ist. Bei diesem Erwärmen entweicht in der Regel die ganze Luft, und es werden die Räume im Schliffe mit dem feinen Anilinblaupulver gefüllt. Da aber die Flächen des Schliffes bei dieser Prozedur mit Niederschlägen verunreinigt werden, so entferne man diese durch Polieren auf einer matten Glastafel, die mit einer 2- bis 3%igen Kochsalzlösung, welche Anilinblau nicht löst, benetzt wird, spüle den Schliff in derselben Kochsalzlösung ab und schließe in Glyzerin-Kochsalz ein; oder, nachdem der Schliff ganz flüchtig mit dest. Wasser abgespült worden ist, um Kochsalz zu entfernen, wird er schnell getrocknet und nach § 891 in hartem Kanadabalsam eingeschlossen. Diese Methode gelingt nur an gut mazerierten Knochen (s. § 887). Vorsicht ist notwendig beim Erhitzen der Farbe; entzündet sich dieselbe, so bedecke man die Abdampfschale bis zum Erlöschen der Flamme mit einem bereitgehaltenen, flachen Deckel und fahre dann mit dem Abdampfen fort.

Das gewöhnliche Überführen in flüssigen Kanadabalsam ist in diesem Falle deshalb nicht zulässig, weil Anilinblau durch Alkohol, ätherische Öle etc. gelöst, resp. angegriffen wird.

894. Zimmermann (89) kocht dünne in Xylol entfettete und getrocknete Schliffe in alkoholischer gesättigter Fuchsinlösung wiederholt mehrere Minuten, läßt ihn dick

mit Farbstofflösung bedeckt 2—3 Tage trocknen (Ruprecht dampft ein), schabt den Überschuß an Farbstoff vorsichtig ab, schleift in Xylol, Xylolkanadabalsam.

895. Ganz dieselben Methoden können ohne weiteres auf die **Zähne** (s. v. Ebner [91]) übertragen werden, wobei die **Dentinröhrchen** mit Luft, resp. Farbe, gefüllt werden. Schleifen mazerierter Zähne, Kochsche Versteinerungsmethode (s. § 884).

896. Ätzt man Längsschliffe durch den Schmelz mit Salzsäure, so tritt die Kreuzung reiner Prismen deutlich hervor (Retziussche Linien). Beim Dentin werden die Fibrillen sichtbar. Literatur zu Kap. 18: Schaffer (88, 93, 03, 10); für Zähne: v. Ebner (91).

19. Kapitel. Untersuchung des Muskelgewebes.

a. Quergestreifte Muskulatur.

897. Um **quergestreifte Muskelfasern** als frisches Präparat zu untersuchen, zerzupft man kleine Skelett-Muskelstückchen eines Frosches oder einer Maus in physiologischer Kochsalzlösung od. dgl. Die Querstreifung ist zwar zu sehen, tritt aber oft nicht sehr deutlich hervor, besser die Längsfibrillierung. Oft wird die Querstreifung nach leichtem Druck auf das Deckglas deutlicher sichtbar.

898. Bei Fröschen sieht man oft zwischen den Fibrillen glänzende Pünktchen (namentlich bei Winterfröschen); es sind dies meist Fett- oder Lipoidkügelchen, die Plastosomen sind weniger lichtbrechend.

899. Nach einiger Zeit hebt sich bei der Untersuchung nach § 897 das **Sarkolemm** deutlich ab.

900. Rascher kann man es zur Darstellung bringen, wenn man frisch gezupften Muskelfasern viel Wasser zusetzt; es hebt sich dann das Sarkolemmhäutchen in der Weise ab, daß es mehr oder weniger auffallende Hervorragungen bildet.

901. Solger empfiehlt zu diesem Zweck statt Wasser die Anwendung einer kalt gesättigten Lösung von kohlensaurem Ammoniak. Der Sarkolemm-Schlauch hebt sich hierbei schon nach etwa 5 Minuten an sehr vielen Stellen ab.

902. Nach Froriep (78) wird das Sarkolemm, das er als eine hyaline Membran auffaßt, von Trypsin nicht verdaut, während es sich bei Kochen in verdünnter Säure beinahe völlig löst; es würde sich demnach wie leimgebendes Bindegewebe verhalten. Ewald (90) berichtet dagegen, daß es sich in Trypsin löst. Wenn man es aber vorher mit Osmium-

säure fixiert, dann kocht und nun mit Trypsin behandelt, so bleibt es unverändert, während sich ebenso behandeltes Bindegewebe auflöst. Nach Griesmann (13) bleibt nach Trypsinverdauung des in Sublimatformol fixierten Muskels ein sehr feines Bindesubstanzgerüst zurück, das nach Woronin und Traina färbbar ist. Nach Peterfi (13) besteht das Sarkolemm aus feinsten Bindegewebsfasern und einer strukturlosen hyalinen Membran, die sich bei Azokarmin-Mallory-Färbung blaßblau färbt. Asai (14) erkennt nur die besonders mit der Trainaschen Methode darstellbare strukturlose Membran als Sarkolemm an, während er die aus feinsten Fäserchen bestehende Hülle zum bindegewebigen Perimysium internum rechnet.

903. Eine Anzahl Reagenzien, wie z. B. Alkohol, sehr dünne Lösungen von Chromsäure oder chromsauren Salzen (unter 0,1%), begünstigen den fibrillären Zerfall der Muskelfaser beim Zupfen.

904. Schwache Essigsäure (½ bis 1%), eine 1—5%ige Salzsäurelösung, Magensaft etc. bewirken dagegen den Zerfall der Muskelfasern in Scheiben (aber in keine Bowmanschen).

905. Verschiedene Käferarten (z. B. Hydrophilus piceus) werden nach Rollett (85) äußerlich abgetrocknet und lebend in Alkohol von 93% gebracht. Die Muskeln zeigen unter Umständen Zerfall in **Bowmansche Scheiben** (Querscheiben) bei erhaltenem Sarkolemma. Man untersucht sie nach 24 bis 48 Stunden in verdünntem Glyzerin. Nach 10—12 Tagen verwende man, um sie, wenn man, was sehr zu empfehlen ist, beabsichtigt, mit Hämatoxylin zu tingieren, Glyzerinhämatoxylin. Man setze zu mit Wasser verdünntem Glyzerin wenig Hämatoxylin zu, zupfe in demselben und färbe 6—12 Stunden.

Verdünnte Säuren dagegen machen die Substanz der Bowmanschen Scheiben selbst quellen und lösen dieselbe endlich auf (Krause). Die Säurewirkung studiere man nach Rollett, indem man Käfermuskeln, welche 24 Stunden in 93%igem Alkohol gelegen haben und die den früher beschriebenen Scheibenzerfall zeigen, in Glyzerin zupfe und an den Rand des Deckgläschens einen Tropfen Glyzerin bringe, welchem eine Spur von 1%iger Ameisensäure zugesetzt worden war. Dann untersuche man auch in 1%iger Ameisensäure direkt.

906. Zum weiteren Studium (auch der **Cohnheimschen Felder**) empfiehlt sich Vergoldung (siehe § 1049ff.). Rollett verfährt folgendermaßen: Man bringe ganz frische Käfermuskeln nach Retzius in $^1/_5$—$^1/_2$%ige Goldchloridlösung, ziehe sie mit Platinnadeln etwas auseinander, lasse sie 20 bis 25 Minuten im Goldbade verweilen und bringe sie dann in 1%ige Ameisensäure oder Bastian-Prichardsche Reduktionsflüssigkeit (siehe Prichardsche Lösung § 1337).

907. Die **Querstreifung** tritt sehr gut an Zupfpräparaten von alten, längere Zeit in Alkohol aufbewahrten Wirbeltiermuskeln hervor; ev. färbt man vor der Isolierung mit Hämalaun vor (Stückfärbung). Die doppelt brechenden Substanzen erscheinen dann dunkelblau, das übrige heller bis farblos. Ebenso läßt sich an Schnittpräparaten von derartigem Material die Querstreifung gut erkennen.

908. Zur **Isolierung der Muskelfäserchen** behandelt Peterfi kleine Muskelstückchen 2—4 Wochen mit 2,5%igem salizylsaurem Alkohol, wäscht 24 Stunden in Leitungswasser, kocht 1—2 Stunden in Wasser, legt in 10%igen Alkohol ein und bringt durch steigenden Alkohol in Xylol, in dem dann isoliert wird.

909. Zur **Fixierung** eignen vor allem die in § 191 bis § 194 angegebenen Trichloressigsäuregemische, ferner Pikrinsäure, Formolalkohol, Zenkersche Flüssigkeit u. a. Die Einbettung erfolgt am besten in Zelloidin oder Zelloidin-Paraffin.

Gute Resultate gibt auch die in § 1026 angegebene Fixierungsmethode mit Cadmiumformollösung (H. Müller 17). Bei nachfolgender Färbung nach Lorrain-Smith-Dietrich (§ 592).

Beim Herauspräparieren des Muskels hat man sorgfältig jedes Quetschen des Gewebes zu vermeiden. Heidenhain (18) empfiehlt den Muskel nicht gleich nach dem Tode in die Fixierungsflüssigkeit zu bringen, da in diesem Falle sehr leicht Kunstprodukte (Zerreissungen usw.) entstehen. Er umwickelt daher frühentnommene Muskelstückchen mit einem in physiolog. Kochsalzlösung eben angefeuchteten Gazestreifen und lässt sie in einer verschlossenen Schale einige Stunden liegen. Starkes Benetzen ist zu vermeiden, weil es leicht zu Quellungen führt. Dann spannt man die Muskelstückchen in natürlicher Länge mit Igelstacheln auf Kork auf und fixiert in 5%iger Trichloressigsäure. Nach 24 Stunden überträgt man in öfter zu wechselnden 96%igen Alkohol usw.

910. Schnitte von derart fixierten Präparaten färbt man mit 0,5—1%iger **Thiazinrotlösung,** bis sie kräftig gefärbt, aber doch noch durchsichtig sind, und dann 1 bis 12 Stunden mit einer basischen Farbe, z. B. **Thionin** oder Methylenblau in 1% wässeriger Lösung, differenziert mit Alkohol oder, wenn dieser die Farbe nicht energisch genug auszieht, mit Methylalkohol. Auf diese Weise erhält man eine sehr scharfe Färbung von *Z*, *M*, *T* und *h*; *Q* bleibt

ungefärbt. Auch die Schaltstücke in der Herzmuskulatur färben sich sehr schön (M. Heidenhain 03b).

911. Bei Färbung mit **Brillantschwarz-Toluidinblau-Safranin** kommen die Schnitte zuerst ½ bis 1 Stunde in 1%ige wässerige Lösung von Brillantschwarz 3B, dann ebenso lange in eine 1%ige wässerige Lösung von Toluidinblau. Hierauf differenziert man in einer 0,5—1%igen alkoholischen Lösung von Phenolsafranin (oder Chromotrop 2R oder Azokarmin) und bringt durch abs. Alkohol und Xylol in Balsam. Resultat: Myofibrillen rosa-karminrot, Bindegewebe, Sarkolemm, Chromatin dunkelblau, achromatische Nukleoli rot (M. Heidenhain-Peterfi).

912. Färbung mit **Eisenhämatoxylin-Thiazinrot** nach M. Heidenhain (Peterfi 13). Zuerst typische Färbung mit Eisenhämatoxylin nach § 358. Dann Nachfärbung mit 0,5%iger wässeriger Thiazinrotlösung, Abspülen in dest. Wasser, 96%iger und abs. Alkohol, Xylol. Myofibrillen dunkelblau, Bindegewebe und Sarkolemm lebhaft rot, *Q*-Streifen und Chromatin schwarz.

913. Ausgezeichnete Resultate gibt ferner die in § 368 angegebene Färbung mit **Vanadiumhämatoxylin.** Auch bei den **Versilberungsmethoden** (§ 802) treten die Myofibrillen häufig sehr gut hervor.

914. Es ist nicht gleichgültig, ob man einen **gedehnten** oder **nicht gedehnten,** kontrahierten oder schlaffen **Muskel** untersucht.

Alle diese Zustände des Muskels stellt man sich durch passende Lagerung der Extremitäten, z. B. an einem Muskel oder einer Muskelgruppe her. Dann injiziert man durch Einstich mit einer Pravazschen Spritze etwa ¼—½ ccm 1%ige Osmiumsäure oder andere geeignete Fixierungsflüssigkeit, welche sich den Fasern entlang verbreitet und diese sofort fixiert. Nach 15—20 Minuten schneidet man mit einer krummen Schere so fixierte Stücke aus, wäscht sie mit dest. Wasser und faserт auf dem Objektträger. Man sieht die Querstreifung sehr deutlich, schon an ungefärbten und in Glyzerin eingeschlossenen Präparaten.

Muskeln können auch in Tetanus versetzt werden, indem man sie beispielsweise elektrisch reizt und in kontrahiertem Zustande, wie oben erwähnt, fixiert und in gleicher Weise weiter behandelt (Ranvier, 89).

915. Auch **rote** und **weiße Muskeln** sehen nicht ganz gleich aus, namentlich, was die Höhe der Scheiben und die Verteilung des Sarkoplasmas betrifft.

Die Mehrzahl der Muskeln der unteren Extremität des Kaninchens ist weiß, hat wenig Sarkoplasma und zuckt

schnell, rot sind dagegen der Semitendinosus, Cruralis, Adductor brevis, Soleus, Quadratus femoris, sie zucken träge, haben reichlicheres Sarkoplasma, welches die Fibrillen in Gruppen zerteilt. (Ranvier 89, Pantul 04.) Beim Menschen findet man beide Arten von Fasern nebeneinander fast in allen Muskeln (Schaffer 93b), deutlich z. B. im Querschnitt vom Trapezius oder Rectus abdominis.

916. Die Beziehungen der Fibrillengruppen zum Sarkoplasma (Cohnheimsche Felder) und die Kerne studiere man an Querschnitten mit Osmiumsäure in gedehntem Zustande fixierter Muskeln. Auffallend viel Sarkoplasma im Verhältnis zu der Menge der Fibrillen sieht man beispielsweise an den die Rückenflosse des Seepferdchens bewegenden Muskeln; unter den Säugetieren bieten die Brustmuskeln der Fledermäuse ähnliches (Rollett, 89).

917. Um die **Verteilung der Kerne** in verschiedenen Muskelarten verschiedener Tiere zu studieren, schneide man die Muskelfaser quer; auf sehr dünnen Schnitten kann man auch die Verteilung der Fibrillen in der Faser studieren. Muskelfasern, die vorher vergoldet (s. § 1049 ff.) und quer, resp. längs geschnitten waren, zeigen auf das deutlichste das dunkelgefärbte Sarkoplasma.

918. Zur Untersuchung der Beziehungen von **Muskelfaser und Sehne** empfiehlt O. Schultze folgende Technik: Um die Muskeln in entspanntem Zustand zu bekommen, fixiert man erst ½—2 Stunden nach dem Tode. Man nimmt die Muskeln im Zusammenhang mit Sehne oder Faszie heraus, befestigt sie an einem Korkrahmen und fixiert in abs. Alkohol-Formol (2 : 1) oder in Kaliumbichromat (3%ig): Formol (4 : 1). Nach 24 Stunden überträgt man ebenso lange in 96%igen Alkohol, der mehrmals gewechselt wird. Dann isoliert man kleine Bündelchen und legt sie für 48 Stunden in eine Mischung von 2%iger Kaliumbichromatlösung und 96%igem Alkohol (āā, im Dunkeln). Hierauf überträgt man sie ebenso lange in eine 0,5%ige gereifte Hämatoxylinlösung (Herstellung: 0,5 g Hämatoxylin werden in 100 ccm 70%igen Alkohols und für 2—3 Tage in einem enghalsigen offenen Glas in den Thermostat gestellt, täglich 2—3mal schütteln), die man 2—3mal erneuert. Nach 24 Stunden extrahiert man mit 70%igem Alkohol, bis er sich nicht mehr gelblich färbt, dann für 24 Stunden in eine 1%ige Säurefuchsinlösung, 96%igen Alkohol, dann Isolieren und Einbetten in Zelloidinparaffin oder in Kollodium-Paraffin und Schneiden. Zur Einbettung in Kollodium-Paraffin bringt man die Objekte aus dem 96%igen Alkohol in eine Mischung von ge-

wöhnlicher 4%iger Kollodiumlösung mit 96%igen Alkohol (1 : 2). Nach 24 Stunden kommen die Präparate in eine Mischung von Zedernholzöl und Chloroform zu gleichen Teilen und bleiben hierin so lange, bis sie zu Boden sinken (etwa 4 Stunden). Sodann kommen sie für 5—10 Minuten in reines Paraffin (Schmelzpunkt 65° C), das man einmal erneuert. Schließlich Einbettung, Schnittdicke 2 μ. Die Präparate beweisen nach O. Schultze und Loginow den direkten Übergang der Myofibrillen in Sehnenfibrillen (ebenso W. Podwiesotzky 87).

919. In der Membrana retrolingualis des Frosches konnte Loginow (13, S. 184f.) den Übergang der Myofibrillen in elastische Fasern nachweisen. Dazu wird die wie oben mit Hämatoxylin vorgefärbte Membran 3—6 Stunden in Orcein (Orcein 0,5 g; 70%iger Alkohol 70 ccm) nachgefärbt, mit salpetersaurem Alkohol differenziert und in Balsam eingeschlossen. Resultat: Muskelfasern violett, elastische Fasern braun.

920. Peterfi (13) arbeitet außer nach § 785 hauptsächlich mit den in § 911 und 912 angegebenen Methoden und bestreitet auf Grund seiner Untersuchungen den von Schultze angenommenen direkten Übergang der Myofibrillen in die Sehnenfibrillen, die nach P. ihren Ursprung aus den Bindegewebsfibrillen des Sarkolemms nehmen.

Ältere Technik bei Weisman (61), Ranvier, Kühne (62), Podwissotzki (87).

921. Die **Untersuchung der Herzmuskelzellen** erfolgt nach der gleichen Technik wie die des Skelettmuskels.

922. Die **Herzmuskelfasern** vom Myokard des erwachsenen Menschen zerfallen mitunter durch Mazeration in 20%iger rauchender Salpetersäure (bis 24 Stunden) in die den Myoblasten entsprechenden Stücke mit je einem Kern. (Kalilauge vom spez. Gewicht 1,33 ½—1 Stunde angewandt, tut dasselbe.) Die Grenzen zwischen den Myoblasten des Myokards verschwinden nicht immer spurlos und lassen sich z. B. mit Hämatein mitunter, wenn auch nur stellenweise, nachweisen.

923. Die Muskelzellen der **Purkinjeschen Fäden** (Reizleitungssystem) werden in der Weise dargestellt, daß man ½ mm dicke Lamellen mit dem Endokard in wenig Ranvierschen ⅓ Alkohol auf 24 Stunden einlegt. Auch 5%ige Lösung von Ammonium monochromat in Wasser leistet Vorzügliches (Ranvier, 89).

Es läßt sich nun das Endokard ganz glatt abziehen, die Purkinjeschen Fäden werden abgehoben und zerzupft. Es lassen sich die Zellen bequem mit Nadeln iso-

lieren, ev. isolierte Zellen beispielsweise mit Pikrokarmin nachfärben (nicht zu stark) und in Glyzerin einschließen. Sehr geeignete Objekte liefern die Herzen der Schafe, Ziegen und Pferde, nicht des Menschen.

924. Zur **Färbung der Purkinjeschen Fäden** wird meist die van Giersonsche Färbung benützt. Sehr schöne und haltbare Präparate gibt die Färbung nach Pasini (§ 786).

b. Glatte Muskulatur.

925. Zur Beobachtung der **glatten Muskelzellen** im frischen Präparat eignet sich besonders die Harnblase des Frosches oder das Mesenterium des Salamanderenddarmes. M. Heidenhain füllt die Harnblase zur Isolierung der Muskelzellen mit Drittelalkohol. Nach 24stündigem Liegen in Drittelalkohol schneidet man auf, pinselt das Epithel ab, färbt mit Delafieldschem Hämatoxylin und mit Kongorot.

926. Weitere **Isolationsmethoden:** Reichert legt die Muskularis eines Darmstückes 2—3 Stunden in 10 bis 20%ige rauchende Salpetersäure, wäscht mit Wasser aus und zerzupft auf dem Objektträger.

927. Froriep (78) kocht Darmmuskularis in 2,5%iger Salizylsäure und bewahrt sie darin auf. Nach Monaten läßt sie sich vollkommen zerschütteln.

928. Legt man aber kleinere Stückchen in **Kalilauge-lösung,** 1,33 (32,5%) spezifischen Gewichts und beläßt sie dort ½—1½ Stunden, so lassen sich in derselben Flüssigkeit durch Fasern zahlreiche deutliche Spindeln darstellen. Ist der Mazerationsprozeß vollkommen gelungen, so zerfallen die Muskelmembranen in lauter Fasern schon infolge des Druckes des Deckgläschens; sie werden in Kalilauge untersucht. Ebenso isoliert man die verzweigten quergestreiften Muskelzellen aus der Zunge des Frosches. Auch Alkoholpräparate lassen sich so mazerieren (Moleschott 59 und 63). Will man die Mazeration unterbrechen, so setze man der Kalilauge etwa 60% Kali aceticum zu; will man färben, so wasche man mit Alaun aus.

929. Levi isoliert einige Stunden mit einer 1 bis 2%igen Natriumfluoridlösung, die überhaupt »Kittsubstanzen« lösen soll. Die Färbbarkeit der isolierten Elemente ist schlecht.

930. An kleinen Gefäßen, z. B. im Mesenterium kleiner Tiere, lassen sich die **Zellgrenzen der glatten Muskel-**

fasern durch Versilbern sehr schön darstellen. Technik wie in § 664.

931. Zur **Untersuchung im Schnittpräparat** eignen sich ganz besonders die Muskelzellen des graviden Uterus. Sehr günstig ist ferner die Darmmuskulatur der Katze, besonders wenn man die Fixierung nach § 101 durch Injektion vom Herzen aus vornimmt (mit Heldscher Flüssigkeit). An derartigen Präparaten lassen sich die Myofibrillen und deren Kontraktionsknoten sehr gut beobachten (Färbung z. B. nach Mallory oder Pasini). Auch das feine intermuskuläre Bindegewebsnetz (s. auch Schaffer 99) tritt bei Färbung nach Mallory, Traina, mit Pikroblauschwarz od. dgl. schön hervor. Noch schärfer läßt es sich mit der Silbermethode von Bielschowsky oder Achucarro-Ranke darstellen, doch muß man in diesem Fall mit Formol fixieren (besonders nach der Methode von Agduhr § 807). Die in § 811 angegebene Methode ergibt auch bei Heldscher Fixierung sehr gute Resultate.

Bei der in § 1026 angegebenen Cadmiumformolmethode mit nachfolgender Färbung nach Lorrain-Smith-Dietrich (s. § 592) treten die glatten Muskelzellen braunschwarz gefärbt hervor.

932. Mit einer 1%igen Osmiumsäure fixierte glatte Darmmuskulatur kleinerer Tiere, z. B. des Frosches, wird mit Paraffin durchtränkt und genau senkrecht auf die Richtung der Fasern möglichst dünn (unter 5 μ) geschnitten. Die Querschnittbilder sind instruktiv und sehr charakteristisch. An gefärbten Längsschnitten studiere man die stabförmigen Kerne der Muskelfasern. Die sog. **Nukleinspiralen** der Kerne sind sehr empfindlich und vergehen schon $\frac{1}{4}$ Stunde nach dem Tode. Die beste Fixierung frischen Materials ist Sublimat-Eisessig. Münch.

933. A. Müller hat auf den Form- und Größenunterschied der glatten Muskelzellen in kontrahierten und vollen Organen und auf verschiedene Anordnung der kontraktilen Elemente in beiden Zuständen hingewiesen. Bei der Umordnung der Elemente ist das intermuskuläre Bindegewebe tätig.

20. Kapitel. Die Untersuchung des Nervensystemes.

A. Zentralnervensystem.

1. Allgemeines.

934. Beim **Herausnehmen** von Gehirn und Rükkenmark entferne man zuerst möglichst vollständig die darüber gelegene Haut- und Muskelschicht. Dann wird

der Rückenmarkskanal mit einer Knochenzange eröffnet; die Schädelhöhle öffnet man bei kleinen Tieren, z. B. Fischen, Fröschen u. dgl. mit einem Messer, bei jungen Meerschweinchen oder Kaninchen mit einer starken Pinzette. Bei größeren Tieren benötigt man Säge und Knochenzange. Ist das Gehirn bzw. Rückenmark freigelegt, so müssen zunächst noch die einzelnen Nerven durchschnitten werden. In die Fixierungsflüssigkeit werden die Stücke auf Glaswolle oder Wattebäusche eingelegt oder an einem Faden eingehängt. Gehirn und Rückenmark größerer Säugetiere verschafft man sich aus dem Schlachthof. Die Objekte sollen möglichst lebensfrisch in die Fixierungsflüssigkeit kommen. Mehrere Stunden nach dem Tode lassen sich meist nur mehr Orientierungsbilder gewinnen. Als Fixierflüssigkeiten kommen beim Nervensystem hauptsächlich Alkohol, Formalin, Kaliumbichromat und Müllersche Flüssigkeit in Betracht.

Kann die Fixierung, wie es besonders bei menschlichem Material der Fall ist, erst 24—48 Stunden nach dem Tode erfolgen, so kann man versuchen, dadurch eine leidliche Konservierung zu erzielen, daß man mit einer nicht zu dünnen Kanule von der Nasenhöhle aus das Siebbein durchstößt und so in die Schädelhöhle gelangt; man läßt möglichst viel Liquor ablaufen und injiziert dann eine 10%ige Formollösung. Auch durch Lumbalpunktion kann eine Fixierung versucht werden. Noch günstiger ist eine Durchrpülung von der art. carot. aus.

Zur Einbettung wird man häufig das Celloidinverfahren anwenden, besonders für große Gehirnschnitte, die man nach § 292 aufklebt. Über die Anfertigung ganzer Gehirnschnitte vgl. ferner Stuurmann (15).

935. Spinalganglien und sympathische Ganglien werden in derselben Weise fixiert. Letztere trifft man öfters als Nebenbefunde bei Untersuchung größerer Arterien.

2. Untersuchung der Ganglienzellen.

a) Isolierung.

936. Um Ganglienzellen zu **isolieren**, hat man eine Reihe von Methoden angegeben, die das mühsame Herauszupfen erleichtern.

Sehr große Ganglienzellen findet man nach Levi (04) bei großen Tieren, wie Rind, Pferd; ferner bei der Katze. Man schneidet sich dann aus geeigneten Stellen, wie z. B. aus den Vorderhörnern des Rückenmarks, kleine Stückchen heraus und legt diese in einer der nachfolgenden Isolierungsflüssigkeiten.

937. Drittel-Alkohol 1—2 Wochen (Ranvier, s. a. § 658).

938. Jodserum, 24 Stunden (Max Schultze 64, s. § 51).

939. Wässerige Chromsäurelösung (0,2—0,5 g: 1000) auf 3—5 Tage oder länger.

940. Kaliumbichromat in 0,1%iger wässeriger Lösung. 2 Wochen oder länger.

941. Osmiumsäure 0,1%ig 24 Stunden oder länger.

942. Sind Fasermassen durch die Einwirkung der Isolierungsflüssigkeit genügend erweicht, dann lassen sich die Ganglienzellen durch Schütteln oder Zupfen ziemlich leicht isolieren. Die Präparate werden dann in Wasser oder Glyzerin untersucht; durch Zusatz von etwas Eosin, Säurefuchsin o. dgl. lassen sich die Zellen leicht etwas anfärben.

943. Die Ganglienzellen sind der Fäulnis gegenüber sehr resistent. Man kann geradezu graue Substanz in Wasser oder sehr verdünnter Chromsäure faulen lassen und dann die Ganglienzellen mit langen Fortsätzen durch Zupfen isolieren.

b) Kern- und Tigroidsubstanz.

944. Zur Darstellung der Kernstrukturen empfehlen sich die in § 515—519 angegebenen Methoden.

945. Große Bedeutung erlangte in der Histologie des Zentralnervensystems die Nißlsche Methode, die Nißl zur Herstellung seines Äquivalentbildes von Ganglienzellen angegeben hat. Bei ihr treten die zelligen Bestandteile in intensiv blauer Farbe sehr klar hervor, während die Fasermassen ungefärbt erscheinen. Dieser Effekt beruht zum großen Teil auf der Färbung der in das Protoplasma der Nervenzellen eingelagerten **Tigroidschollen** (»Nißlkörper«).

946. Ausführung. Nißl schneidet mit einer scharfen Schere Hirnstücke in Würfelform (womöglich nicht unter 1 cm Seite) heraus und bringt sie möglichst lebensfrisch in reichliche Mengen 96%igen Alkohols auf Watte. Der Alkohol wird am 1. Tag einmal, später jeden 2. Tag erneuert. Nach 5 Tagen wird eine Seite des Objekts glatt abgeschnitten, mit Filtrierpapier abgetupft und hier mit etwas Gummiarabikum auf einen Holzblock aufgeklebt; hierauf kommt der Block für kurze Zeit nochmals in den Alkohol und wird dann ohne weitere Durchtränkung oder Einbettung auf dem Mikrotom in 10—15 μ dicke Schnitte zerlegt, wobei er ebenso wie das Messer stark mit 96%igem Alkohol befeuchtet wird.

Die Schnitte kommen in ein Uhrschälchen mit folgender Farblösung: Methylenblau B-Patent 3,75 g; geschabte venetianische Seife 1,75 g; Wasser 1000 ccm. Nun erwärmt man die Farblösung, bis Bläschen aufsteigen. Dann bringt man die ausgebreiteten Schnitte zur Differenzierung in eine frisch bereitete Mischung von wasserhellem Anilinöl (Höchster Farbwerke) 10 ccm + 96%igen Alkohol 90 ccm, bis keine gröberen Farbwolken mehr abgehen. Der auf den Objektträger gebrachte Schnitt wird mit glattem Fließpapier abgetrocknet und rasch mit Cajeputöl bedeckt, dann wieder abgetrocknet, mit Benzin übergossen (nicht austrocknen lassen!) und mit Kolophonium-Xylol bedeckt. (Gesättigte Lösung von Kolophonium in Xylol.) Nun wird der Objektträger vorsichtig erwärmt, bis das Xylol verdunstet ist, worauf man auf die noch heiße Kolophoniumschicht ein heiß gemachtes Deckglas auflegt. Die Farblösung, die vor Gebrauch geschüttelt und filtriert wird, muß vor der Verwendung mindestens 1 Vierteljahr »reifen«.

(Genaue Einzelheiten der Methode s. Nißl, Enzykl. der mikr. Techn. Artikel Nervensystem.)

947. Die **Nißlsche Originalmethode** kommt eigentlich nur mehr für Untersuchungen in Betracht, in denen es sich um die exakte Feststellung etwaiger Abweichungen von dem von Nißl aufgestellten Normalbild handelt. In diesem Fall hat man sich peinlichst genau an die Vorschriften Nißls zu halten.

948. Für alle übrigen Fälle ist die Färbung mit **Toluidinblau** sowohl wegen der einfachen Technik als auch wegen der kontrastreicheren Farbe entschieden vorzuziehen.

Man färbt dabei die nach den Nißlschen Angaben fixierten und geschnittenen Präparate ½—1 Stunde in einer 0,1%igen wässerigen Lösung von Toluidinblau (Thionin oder Kresylviolett), wäscht 15 Minuten in dest. Wasser aus, differenziert in Alkohol von steigender Konzentration oder in Anilinöl-Alkohol (Pappenheimer 08) und bringt durch Xylol in Xylol-Kolophonium nach Nißl.

949. In den meisten Fällen dürfte es vorzuziehen sein, die Objekte in Celloidin einzubetten, doch ist dabei zu beachten, daß diese Präparate nicht mehr ganz dem Nervenzelläquivalentbild Nißls entsprechen.

950. Stuurmann (15) fixiert statt in Alkohol in der Carnoyschen Flüssigkeit und bekommt dabei besonders bei embryonalem Material, das anders leicht schrumpft, bedeutend bessere Resultate. Ferner bettet er in Paraffin ein. Färbung mit Toluidinblau oder nach Nißl. Nach der Fär-

bung hellt St. inBergamottöl auf, übergießt mit dünnem Xylol-Kanadabalsam und läßt soviel als möglich abtropfen. Dann läßt man 24 Stunden in horizontaler Lage vor Staub gesichert bei Zimmertemperatur und hierauf noch 6 Stunden bei 58° trocknen, ohne ein Deckglas aufzulegen (trocknet man gleich in der Wärme, so bilden sich Schlieren). Später wird das Präparat noch mit einer 10%igen filtrierten Gelatinelösung übergossen, die man wieder abtropfen läßt. Nach 1—2 Tagen ist die Schicht trocken. Nach Sturmann bleichen derartig eingedeckte Präparate nicht aus.

951. P. Mayer (18) streckt Paraffinschnitte zuerst auf warmem Wasser und läßt sie dann ohne Lösung des Paraffins 24 Stunden auf einer der beiden nachfolgenden Lösungen schwimmen; Thionin 2 g, Weinsteinsäure 1 g, dest. Wasser 1000 ccm, oder Pyronin G 2 g, Weinsteinsäure 2 g, dest. Wasser 1000 ccm. (Um Schimmelbildung zu vermeiden, setzt man noch 2—3 ccm Formol zu.) Nach der Färbung fängt man den Schnitt mit dem Objektträger auf und läßt trocknen. Hierauf Xylol und Balsam o. dgl. Die Tigroidsubstanz färbt sich nach dieser Methode sehr scharf, auch nach Formolfixierung.

952. Held fixiert 24 Stunden mit Pikrinschwefelsäure (vgl. § 164, auch Carnoysche Flüssigkeit gibt nach Cowdry sehr gute Resultate), führt vom 20%igen Alkohol allmählich bis zum abs. Alkohol, bettet in Paraffin ein und färbt unter leichtem Erwärmen die mit 30%igem Alkohol aufgeklebten dünnen Schnitte 2 Minuten in Erythrosin 1 g; Eisessig 2 Tropfen, dest. Wasser 150 ccm. Nach Auswaschen in Wasser kommen die Schnitte in ein Gemisch von 5%igem Azeton in Wasser und der Nißlschen Methylenblaulösung ($\widetilde{aa}$), das man bei der Färbung bis zum Verschwinden des Azetongeruches erwärmt. Nach Erkalten differenziert man in 0,1%iger Alaunlösung, bis der Schnitt wieder rötlich wird. Auswaschen in Wasser, abs. Alkohol, Xylol, Balsam. Resultat: Tigroidschollen und Nukleolus scharf dunkelblau, Protoplasma und Kern rötlich.

953. Lenhoff (10) färbt zur Darstellung des **Granoplasmas** der Ganglienzellen nach Fixierung in abs. Alkohol in Unnas polychromem Methylenblau 2 Minuten, dann Wasser, Karbol-Methylgrün-Pyronin (Grübler) 20 Minuten, Wasser, Alkohol, Öl, Balsam. Zur Darstellung der Ausläufer der Ganglienzellen Differenzierung in Rhodankaliumlösung,

954. Nach **Gans und Unna** (14) besteht die Nißlsubstanz. die sich nach Alkoholfixierung und Methylgrün-Pyroninfärbung mit letzterer Farbe tingiert, aus »Cytose«. Behandelt man alkoholfixierte Zelloidinschnitte 12 Stunden bei 65°

mit dest. Wasser, so wird dieselbe gelöst. Nach **v. Herwerden** (14) ist dieselbe dagegen aus Nukleinsäureverbindungen aufgebaut, da sie bei Einwirkung von Nuklease (s. § 514) gelöst wird.

c) Darstellung der Plastosomen und Neurosomen.

955. Zur Darstellung der Plastosomen der Nervenzellen eignen sich die in § 533—556 angegebenen Methoden.

956. Bei der in § 554 angeführten Methode färben sich die Plastosomen hellrot, die Nißl-Substanz grün oder blau, die Neurofibrillen hellbraun. Auch das Kanalsystem kann hervortreten.

957. Ähnlich ist die Methode **Alzheimers**, der 24 Stunden in 10%igem Formol fixiert und 8 Tage mit Flemmingscher Flüssigkeit (Eisessig nur 1—2 Tropfen!) nachbehandelt. Die paraffinbefreiten Schnitte werden 1 Stunde bei 58^0 in gesättigter wässeriger Säurefuchsinlösung gefärbt, kurz in dest. Wasser abgespült, bis keine Farbwolke mehr abgeht, für 10—20 Sekunden in eine Mischung von 30 ccm einer gesättigten alk. Pikrinsäurelösung und 60 ccm dest. Wasser eingetaucht, wieder mit Wasser abgespült und 20—50 Minuten in eine gesättigte wässerige Lösung von Lichtgrün, die zur Hälfte mit dest. Wasser verdünnt ist, nachgefärbt. Dann kurz abspülen mit Wasser, mit Fließpapier abtrocknen und durch abs. Alkohol rasch in Xylol und Balsam. Resultat: Plastosomen und Neurosomen leuchtend rot, Nißl-Substanz grün; ebenso ist der Zelleib der amöboiden Gliazellen grünlich, Glia und Bindegewebsfasern rot.

958. Die von Held mit Erythrosin-Methylenblau (§ 952) dargestellten Neurosomen entsprechen zum großen Teil Plastosomen. Bei Anwendung einer für die Erhaltung der Plastosomen ungeeigneten Fixierungsflüssigkeit (z. B. Carnoyscher Flüssigkeit) bekommt man dieselben in veränderter, scholliger Form, während gut fixierte Plastosomen der Nervenzellen scharf konturierte Körnchen- und Stäbchenform besitzen. Ein anderer Teil der Neurosomen entspricht nach Cowdry Körperchen unbekannter Natur. Möglicherweise entstehen diese durch Umwandlung von Plastosomen.

d) Darstellung des Golgischen Binnenapparates.

959. Zur Darstellung des **Golgischen Binnenapparates** (Apparato reticolare interno; Phormien, Centrophormien) in den Ganglienzellen vergleiche man § 557—564.

960. Außer diesen auch allgemein anwendbaren Methoden wird öfters noch eine ältere Methode Cajals (07 und 08) gebraucht, die jedoch nicht so sicher ist wie die in § 557 angegebene Urannitratmethode. Man bringt dazu nicht über 3mm große Stückchen 24—28 Stunden in eine Mischung von Formol 50 ccm und Azeton 50 ccm (eventuell noch Zusatz von 1—2 Tropfen Ammoniak). Nach 4—6stündigem Auswaschen in Wasser überträgt man in abs. Alkohol 50 ccm + 5—7 Tropfen Ammoniak. Nach 24 Stunden spült man einige Sekunden in dest. Wasser und bringt für 4—5 Tage in eine 2%ige Silbernitratlösung bei 35°C, wäscht wieder rasch in dest. Wasser und legt für 24 Stunden in Pyrogallussäure 1 g, Formol 5 ccm, Wasser 100 ccm. Waschen in dest. Wasser, Alkohol usw. Paraffin.

961. Marcora (09) färbt im Anschluß an die Golgi-Methode (s. § 560) das Tigroid in wässeriger Lösung von Magentarot mit Erwärmen bis zur Dampfbildung. Abwaschen in 96%igem Alkohol, Differenzieren in Nelkenöl, Xylol, Balsam.

e) Die Darstellung der Ganglienzellen mit ihren Fortsätzen.

962. Hierfür erlangten vor allem die **Silberimprägnationsmethoden** Golgis große Bedeutung, die auf der Bildung von dichromsaurem Silber beruhen, das sich in einzelnen Ganglienzellen und deren Fortsätzen (unter Umständen auch in Gliazellen usw.) niederschlägt. Heute ist vor allem die sogenannte rasche Methode Golgis gebräuchlich, da die langsame, abgesehen von der sehr langen Dauer inkonstantere Resultate gibt. Beide Methoden werden übrigens nicht nur zur Darstellung von Nervenzellen verwendet, sie sind vielmehr auch zur Imprägnierung von Nervenendigungen, Sekretkapillaren, Zellgrenzen u. a. in Gebrauch.

963. Sehr wichtig ist, nur Material von ganz jungen Tieren zu verwenden (von Neugeborenen, 1—10 Tage alten Tieren u. dgl.). Die Gewebsstückchen sollen nicht zu klein und nicht zu groß sein (am besten 2—3 mm dick und 5—10 qmm Fläche). Man behandle eine größere Zahl von Stückchen gleichzeitig, um von Zeit zu Zeit Probeversuche machen zu können und rechne auf etwa 5 Stückchen 50 ccm Flüssigkeit.

964. Die Dauer der Chromierung ist von großem Einfluß. Leider lassen sich keine genauen Daten dafür geben, die Zeit ist bei jedem Objekt verschieden, sie hängt vom Zustand des Präparates, von der Temperatur, Konzentration und Menge der Flüssigkeit u. a. ab. Sie muß rein versuchsweise getroffen werden.

965. Langsame Methode von Golgi. Kleine Organstückchen kommen im Dunkeln in Müllersche Flüssigkeit oder in 3%ige Kaliumbichromatlösung, die man allmählich auf 5% ansteigen läßt. Nach 4—6 Wochen macht man die ersten Probeversuche, indem man ein Stückchen nach Abtupfen mit Fließpapier für 24 Stunden in eine 0,5—1%ige Silbernitratlösung bringt, die kurz darauf gewechselt wird. Hat man am Rasiermesserschnitte noch keine Imprägnierung gefunden, so wiederholt man die Probe nach 8 Tagen usf. Ist die Imprägnierung gelungen, so behandelt man nach § 971 weiter.

966. Bei **der raschen Methode Golgis** werden die kleinen möglichst frischen Stücke in einer Mischung von 8 Teilen einer 2,5%igen Kaliumbichromatlösung und 1 Teil einer 1%igen Osmiumsäurelösung im Dunkeln vorbehandelt. Vom 3. Tag an überträgt man jeden Tag bis zum 7. täglich einige Stückchen nach Abtupfen mit Fließpapier in eine 0,5—1%ige Silbernitratlösung, die kurz darauf gelb wird und gewechselt wird. Nach 24 Stunden wäscht man mit mit 40%igem Alkohol und behandelt nach § 971 weiter. Unter den Stückchen wird man stets einige mit guten Resultaten finden.

967. Noch günstiger sind die Resultate bei der **Modifikation R. y Cajals** (94b), der die Objekte in eine reichliche Menge von 4 Teilen einer 3%igen Kaliumbichromatlösung und 1 Teil einer 1%igen Osmiumsäurelösung bringt. Neuroglia benötigt hierin nach Lenhossek 2—3, Ganglienzellen 3—5, Nervenfasern 5—6 Tage (im Dunkeln). Hierauf spült man kurz mit dest. Wasser ab und überträgt für 1—6 Tage in eine 0,75%ige Silbernitratlösung.

968. Gelingt die Golgische Methode nicht (dies gilt für alle Modifikationen), so kann man die Präparate in Kalium bichromicum-Osmiumsäure mit etwas schwächerem Osmiumsäuregehalt zurückbringen und nach 24—48 Stunden abermals in Silber übertragen und diese Prozedur eventuell wiederholen.

969. Kopsch fixiert kleine Stückchen in 80 ccm einer 3,5%igen Kaliumbichromatlösung und 20 ccm Formol (auf 2 ccm Substanz 50 ccm Lösung). Nach 24 Stunden wird in die Kaliumbichromatlösung ohne Formolzusatz übertragen; nach 3—6 Tagen (Leber und Magen schon am 2. Tag) einlegen in 0,75%ige Silbernitratlösung usw., wie § 971.

970. Cox fixiert 2—3 Monate (im Sommer 1—2 Monate) in einer Mischung von 16 ccm einer 5%igen Kaliumbichromat-

lösung, 20 ccm einer 5%igen Sublimatlösung und 40 ccm dest. Wassers, wozu zuletzt noch 20 ccm einer 5%igen Kaliumbichromatlösung zugesetzt werden. Gefrierschnitte von derartig vorbehandeltem Material kommen für 1—2 Stunden in eine 5%ige Natriumkarbonatlösung, in der sich die Schnitte schwärzen. Auswaschen, rasches Entwässern, Xylol, Balsam.

971. Bei den in § 965—970 aufgezählten Imprägnationsmethoden werden die Stücke nach dem Silbern mit 40%igem Alkohol gewaschen und in abs. Alkohol übertragen. Man schneidet entweder die in gehärtete Leber eingeklemmten Stückchen mit dem Rasiermesser oder klebt sie mit etwas Gummiarabikum nach § 946 auf und schneidet unter Alkoholbefeuchtung mit dem Mikrotom. Endlich kann man auch nach Alkoholhärtung wieder zurück in Wasser bringen und mit dem Gefriermikrotom schneiden. Die Schnitte werden entwässert und durch Xylol in Kanadabalsam gebracht. Dabei dürfen sie jedoch nicht mit einem Deckglas bedeckt werden, da die Imprägnierung durch zurückgebliebene Xylolreste zerstört wird. Man überträgt sie deshalb auf ein Deckgläschen in eine dicke Kanadabalsamlösung, welche rasch hart wird, und setzt das Deckglas mit dem Präparat nach unten in ein hölzernes Rähmchen oder in einen durchbohrten Objektträger. Die Untersuchung erfolgt von der Seite des Deckglases her.

Man kann auch nach dem in § 484 angegebenen Verfahren in Gelatine einschließen.

972. E. Kallius (92) **reduziert** das chromsaure Silber direkt in metallisches durch den sog. »fünffachen Hydrochinonentwickler« (5 g Hydrochinon, 40 g Na. sulfurosum, 75 g Kalium carbonicum, 250 ccm Aq. dest.). Man nimmt von diesem Präparate 20 ccm auf 230 ccm dest. Wassers. (Diese Lösung hält sich wochenlang gut verschlossen im Dunkeln.) Mit dieser Lösung, welche vor dem Gebrauche mit ⅓ bis höchstens ½ des Vol. abs. Alkohols verdünnt wird, werden die Schnitte mehrere Minuten in einem Uhrschälchen behandelt, bis sie dunkelgrau bis schwarz werden. — Um zu kontrollieren, ob die Reduktion vollendet ist, lege man einen Schnitt in 20%ige Lösung von unterschwefligsaurem Na., worin alles chromsaure Silber gelöst wird (das reduzierte metallische aber nicht). Um die grauschwarze Färbung der Schnitte zu entfernen, verfahre man also: Aus der Hydrochinonlösung kommen die Schnitte auf 10—15 Minuten in 70%igen Spiritus, dann auf 5 Minuten in 20%ige Lösung von unterschwefligsaurem Natron und zuletzt in eine größere Schale Aq. dest. auf längere Zeit bis 24 Stunden. Man darf die Schnitte dann entwässern und in Kanadabalsam überführen, aber auch zuvor färben (Karmin, Hämatox-, Naphthyla-

minbraun werden vorgeschlagen). Die Behandlung der Schnitte mit Kalilauge oder mit salzsaurem Alkohol ist ebenfalls zulässig.

Zu § 962—972 vgl. auch Riese (91) und Golgi (94).

973. Corning (00) bringt in 10%igem Formol fixiertes Material nach der Kronthalschen Methode in eine Mischung einer gesättigten wässerigen Lösung von **Plumbum formicicum** (Merck) und einer 10%igen Formollösung. Nach 5 Tagen überträgt man sie ohne auszuwaschen in ein Gemisch von gleichen Teilen 10%iger Formalinlösung und Schwefelwasserstoffwasser. (Man gieße von diesem Gemisch, um es durch Einbringen der Präparate nicht zu stark zu färben, zuerst etwas über die Stückchen weg.) Dann bringt man durch steigenden Alkohol in Zelloidin. Diese Präparate halten sich auch unter Deckglas unverändert. Die Färbung beruht auf Bildung von Schwefelbleiniederschlägen in den nervösen und gliösen Elementen.

974. All diese Imprägnationsmethoden haben, so viel sie in mancher Beziehung geleistet haben, auch große Nachteile. Weigert schreibt darüber:

»Alle Elemente des Zentralnervensystems, mit Ausnahme der Markscheiden, werden ja von der Golgischen Methode imprägniert: Nervenzellen mit ihren Dendriten und Achsenzylinderfortsätzen, Neurogliazellen und -Fasern, Ependymzellen, ja sogar Gefäße, freilich je nach der Dauer der Tinktion, jeder Bestandteil bald einzeln, bald in den verschiedensten, ganz unberechenbaren Kombinationen mit einem oder mehreren der anderen... Bei der Golgischen Methode fallen die Strukturbilder wegen der Undurchsichtigkeit der Silberverbindung ganz oder so gut wie ganz fort; das gesamte imprägnierte System einer Zelle erscheint einfach als Silhouette. Selbst der Kern ist nur hier und da als hellerer Fleck angedeutet, ja sogar die Gefäße erscheinen oft nicht als hohle Röhren, sondern als solide Stränge.«

975. Um grobe **Ganglienzellen-Fortsätze und Nervenfaserzüge** im Zentralnervensystem darzustellen, ist die alte Methode von Gerlach (71, 72) noch immer zu empfehlen. Schwalbe (01) hat neuerdings darauf aufmerksam gemacht, daß die Färbung in einer lange gestandenen, stark verdünnten ammoniakalischen Karminlösung (1 g Karmin auf 100 g Wasser, Salmiakgeist bis zur Lösung eintröpfeln und die Lösung alt werden lassen, bis der Ammoniakgeruch fast schwindet), nur dann gelingt, wenn man die Schnitte vor der Färbung 14 Tage mit Müllerscher Flüssigkeit oder 1—2 Tage mit 1%iger Chromsäure im Brütofen behandelt; gefärbt wird 24 Stunden.

976. Nach Forel (77) sollen die Zentralnerventeile für diese Methode in Kaliumbrichromat fixiert werden. Alkohol ist vor der Färbung peinlichst zu vermeiden. Die Fixierungsdauer ist sehr verschieden; Vogel- und Froschhirn braucht wenige Wochen, Menschenhirn und besonders Rückenmark benötigt Monate, ja Jahre. Die Härtungszeit ist durchaus nicht der Größe des Hirnes proportional. Dünne Schnitte richtig gehärteter Präparate (Gefrierschnitte) werden erst einige Stunden in Wasser gewaschen und dann in die durch langes Stehen an der Luft neutral gewordene ammoniakalische Karminlösung übertragen.

Das Färbungsvermögen der Lösung muß erst ausprobiert werden. Am besten ist es, die Lösung so stark zu verdünnen, daß die Schnitte 12—24—48 Stunden zur Färbung benötigen. Die Karminlösung kann wiederholt gebraucht werden, sie wird mit der Zeit eher besser.

Hierauf werden die Schnitte mit leicht angesäuertem Wasser (Essigsäure) 1—2 Stunden differenziert; dann Alkohol, Xylol, Balsam.

Resultat: Die Ganglienzellen mit allen ihren Fortsätzen, sowie die Achsenzylinder der Nervenfasern sind intensiv rot gefärbt. Ebenso die Kerne der Gefäßzellen und die Körner der Hirnsubstanz. Die Zwischensubstanz ist rosa gefärbt. Die Markscheiben bleiben ganz weiß oder gelb. Färbt man mit Hämatoxylin vor, so bekommt man die Kerne different gefärbt. Das Gliagewebe läßt sich nach Ranvier durch mehrstündige Nachbehandlung in Alkohol (90%) und Ameisensäure (2 : 1) entfärben.

Wendet man vor der Färbung Alkohol an, so färbt sich im Gegensatze die Zwischensubstanz am intensivsten.

f) Darstellung der Neurofibrillen.

977. Mit an erster Stelle steht die **Methode von Bethe** (00, 03). A. Fixierung: 1. Kleine Stückchen kommen in 3—7,5%ige Salpetersäure (spez. Gew. 1,40) 24 Stunden. Die schwächere Konzentration ist für Darstellung der Fibrillen, die stärkere für Golginetze.

2. Ebenso langes Übertragen direkt in 95%igen Alkohol.

3. Übertragen in eine Mischung von Ammoniak (spez. Gew. 0,95) 1 Teil, dest. Wasser 3 Teile, 96%iger Alkohol 8 Teile. 24 Stunden.

4. 96%iger Alkohol 6—10 Stunden.

5. Auf 24 Stunden in eine Mischung von Salzsäure (spez. Gew. 1,18) 1 Teil, dest. Wasser 3 Teile, 96%iger Alkohol 8—12 Teile.

6. 96%iger Alkohol 10—24 Stunden und dest. Wasser 2—6 Stunden.

7. 24 Stunden in eine 4%ige wässerige Lösung von Ammon. molybdaenic. (weißes Präparat).

8. 96%iger Alkohol, abs. Alkohol, Xylol, Paraffin. Aufkleben der 5—10 μ dicken Schnitte mit Eiweiß, nicht mit Wasser. Die Fixierung muß, wenn man Fibrillen darstellen will, bei einer Temperatur unter 20° C geschehen, für Golgi-Netze kann sie über 20°C liegen.

B. Färbung: Die durch Alkohol in Wasser gebrachten aufgeklebten Schnitte werden gut (nach Gariaeff nur wenig) mit dest. Wasser abgespült; sodann wird der Objektträger unten abgetrocknet, auf die Schnitte 1—2 ccm Wasser geschichtet und so für 2—10 Minuten (Ausprobieren!) zur Differenzierung in den Thermostat (58—60°) gelegt. Dann Abgießen des Wassers, kurzes Spülen, Aufschichten einer Toluidinblaulösung (1 : 3000), 10 Minuten Färben im Thermostaten, Abspülen mit Wasser, bis keine Farbwolken mehr abgehen, abs. Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. (Haltbarkeit der Präparate, wenn Xylol und Kanadabalsam ganz wasserfrei, $^1/_4$ bis 4 Jahre.)

Resultat: Bei richtiger Färbung sind die Neurofibrillen sehr scharf violett gefärbt. Sehr wichtig ist es, die Differenzierung im Thermostaten im richtigen Zeitpunkt zu unterbrechen. Bei zu langer Differenzierung färben sich die Neurofibrillen im Toluidinblau nur mehr schwach. Zu kurze Differenzierung gibt Niederschlag.

978. Donaggio fixiert kleine Stückchen 5—6 Tage in Pyridin, wäscht 24 Stunden aus und bringt ebensolange in eine 4%ige Ammonium-Molybdatlösung, der 4 Tropfen Salzsäure zugesetzt sind. Dann kurzes Abspülen in Wasser, Alkohol, Paraffineinbettung.

Die 3—7 μ dicken, mit Wasser aufgeklebten Schnitte kommen durch Xylol und Alkohol für 1 Minute in dest. Wasser und werden in einer Thioninlösung (1 : 10000) gefärbt. Die Färbung ist beendet, wenn sich die anfänglich gefärbten Kerne wieder entfärbt haben. Auswaschen, Nachfixieren mit Ammonium-Molybdat, Entwässern, Xylol, Balsam.

979. Hauptsächlich bei Wirbellosen ist zur Darstellung der leitenden Elemente des Nervensystems die **Gold-Methode** von **Apathy** (97a) häufig in Gebrauch, die man entweder auf frische oder auf vorher fixierte Objekte anwendet. Im ersteren Falle spricht man von Vorvergoldung, im letzteren von Nachvergoldung. Die Methode ist, wie London, ein Schüler Apathys, sagt, sehr leicht aus-

zuführen, gibt aber häufig unbefriedigende Resultate, sogar in den erfahrensten Händen; jedoch sind von 100 Präparaten immer einige tauglich, und diese sind dann so schön, daß sie den Verlust an Zeit und Mühe reichlich vergelten. Am leichtesten gelingt sie an Wirbellosen (Hirudineen), weshalb man sie zweckmäßig hieran einübt.

980. Ausführung der Methode: **a) Vorvergoldung.** Kleine Objekte, namentlich dünne Membranen, kommen auf mindestens 2 Stunden im Dunkeln in eine 1%ige Lösung von Aurum chlorat. flav., dann ohne Auswaschen in eine 1%ige Lösung von Ameisensäure (spez. Gew. 1,223), worauf sie sofort derart dem Lichte für 6—8 Stunden ausgesetzt werden, daß sie von allen Seiten von Lichtstrahlen durchdrungen werden. Die Ameisensäure ist allenfalls zu erneuern. Einschluß am besten in Gummisirup oder konz. Glyzerin.

981. b) Nachvergoldung. Man fixiere bei Wirbeltieren in Sublimat-Osmium (1 Vol. gesättigte Sublimatlösung in ½%ige Kochsalzlösung + 1 Vol. 1%ige Osmiumsäurelösung) 24 Stunden, Waschen in oft erneuertem dest. Wasser, alsdann in wässeriger Jodjodkaliumlösung (1 g KJ und ½ g J auf 100) 12 Stunden. Weiter wie nach einfacher Sublimatfixierung. Schließlich wird durch Chloroform mit Paraffin durchtränkt, geschnitten und mit Wasser aufgeklebt. Bis zum Durchtränken mit Paraffin wird im Dunkeln gearbeitet. Durch Chloroform und Alkohol werden die Schnitte in Wasser gebracht für mindestens 6 Stunden, oder man spült sie in Wasser ab, bringt sie eine Minute in 1%ige Ameisensäure, spült abermals in Wasser ab und kann sie dann weiter behandeln, zunächst für 24 Stunden in 1%iger Lösung von Goldchlorid im Dunkeln. Sie werden dann kurz in Wasser abgespült, in 1%ige Ameisensäurelösung gebracht und dem Lichte ausgesetzt. Hierzu benützt man Glastuben (s. § 297), in welchen der Objektträger schräg gestellt werden muß in der Weise, daß die Schnitte nach unten stehen. Unerläßliche Bedingung für das Gelingen des Verfahrens ist allseitige Belichtung der Schnitte »bei möglichst intensivem Lichte und möglichst geringer Temperatur«. Man spült sie dann wieder in Wasser ab und überträgt sie in herkömmlicher Weise in Kanadabalsam, oder schließt direkt in konz. Glyzerin oder Gummisirup ein. — Dünne Membranen werden auf eigens hierzu gefertigten Rähmchen von Lindenholz ausgespannt und wie aufgeklebte Schnitte behandelt. Sind die Präparate gut gelungen, so

erscheinen die Neurofibrillen dunkelviolett bis schwarz. Besonders geeignetes Material bei Wirbeltieren: die großen Ganglien des Rückenmarks von Lophius, des Kalbes etc.

982. Große Bedeutung, besonders auch in der Pathologie erlangten für die Darstellung der Neurofibrillen und Achsenzylinder wie anderer Faserstrukturen die **Silbermethoden Bielschowskys und Cajals,** die konstantere und leichter zu erzielende Resultate liefern wie die Goldmethode.

983. Die **Bielschowsky-Methode** wird bei Darstellung der Neurofibrillen im Zentralnervensystem (!) in der in § 802 beschriebenen Weise ausgeführt (für periphere Nerven, s. § 1037). Fixierung und Reduktion erfolgt in säurefreiem Formol (am besten von Schering, Berlin). Von besonderer Wichtigkeit ist die Vergoldung in angesäuerter Goldchloridlösung (auf 10 ccm Wasser 2—3 Tropfen 1%iger Goldchloridlösung und ebensoviel Eisessig), die nach der Reduktion in Formol und nach Auswaschen in Wasser vorgenommen wird (15—20 Minuten); vielfach treten erst durch sie die feinsten Fasern klar und distinkt hervor. Im übrigen sei auch auf die Angaben in § 802—807 verwiesen.

An guten Präparaten sind die Neurofibrillen schwarz auf hellem Grunde zu sehen, ebenso die perizellulären Netzstrukturen der Ganglienzellen. Auch die dünnsten Achsenzylinder treten klar hervor.

984. Modifikationen der Methode. Pyridin-Silber-Methode Bielschowskys (11). 1. Gefrierschnitte von in 20%igem Formol fixierten Blöcken werden in dest. Wasser aufgefangen und auf 24—48 Stunden in unverdünntes Pyridin (Merck) übertragen. Nachher müssen sie sorgfältig von Pyridin befreit werden, indem man sie so lange in oft erneuertem Wasser auswäscht, bis der sehr durchdringende Pyridingeruch verschwunden ist. 2. Übertragen in 3%ige Silbernitratlösung (24 Stunden oder länger bei Zimmertemperatur). 3. Abspülen in dest. Wasser und Einlegen in die Silberoxydammoniaklösung, die in einem Schüttelzylinder in der Weise hergestellt wird, daß man zu 5 ccm einer 20%igen Argent. Nitric.-Lösung 5 Tropfen einer 40%igen Natronlauge zufügt und den entstehenden Niederschlag durch tropfenweisen Zusatz von Liqu. Ammon. caust. triplex unter Schütteln auflöst. Ein zu starker Ammoniaküberschuß, der am Geruch sofort erkennbar ist, muß vermieden werden. Sodann gießt man 20 ccm Wasser zu. Darin bleiben die Schnitte, bis sie gelblich-braun sind,

jedoch nicht länger als 30 Minuten. 4. Auswaschen in dest. Wasser, Reduktion in 20%iger Formalinlösung usw., wie in § 983.

985. Bei der **Imprägnation ganzer Stücke** (Größe nicht über 1 ccm) kommt das Formolmaterial 3—4 Tage in Pyridin, das dann sehr sorgfältig mit dest. Wasser ausgewaschen werden muß. Imprägnation mit 3%iger Silberlösung 3—5 Tage bei 30°C. Die ammoniakalische Silberoxydlösung wird mit 100 statt 20 ccm dest. Wassers verdünnt. Einwirkung: 24 Stunden. Dann 2 Stunden Auswaschen in dest. Wasser, Reduktion in Formalin (einige Stunden). Rasche Entwässerung und Einbettung in Paraffin.

Bei Anwendung der Pyridinmethode ist auch jahrelang in Formol gelegenes Material noch brauchbar. Glia und Bindegewebe färben sich gewöhnlich nicht. Die fibrilläre Struktur der Ganglienzellen kommt bei dieser Modifikation nicht so klar zur Darstellung wie bei der Originalmethode. Die motorischen und sensiblen Endformationen der Nerven treten gut hervor.

986. Der Pyridinmethode noch überlegen scheint mir die **Modifikation von Agduhr,** besonders bei Imprägnation von Blöcken. Man geht in der in § 807 geschilderten Weise vor. Nur bringt man, um die Nerven elektiver herausgefärbt zu bekommen, die Stücke nach der Behandlung mit ammoniakalischer Silberoxydlösung zunächst eine Stunde in 100 ccm dest. Wasser, dem 10 Tropfen Eisessig zugesetzt werden. Eventuell verlängert man die Dauer oder verstärkt den Eisessigzusatz. Doch ist dabei Vorsicht nötig, da unter Umständen sonst die feinen Strukturen, wie z. B. Nervenendigungen, unsichtbar werden. Ferner hat die NaOH-Menge der ammoniakalischen Silberlösung eine gewisse Bedeutung, viel NaOH begünstigt die Bindegewebsfärbung. Nach der Eisessigbehandlung wäscht man 1 Stunde mit dest. Wasser, dann reduziert man in der Formollösung usw.

987. Ausgezeichnete Resultate gibt ferner für Schnitte die Modifikation von V. Gros (O. Schultze 18): 1. Gefrierschnitte von Formolmaterial werden in dest. Wasser aufgefangen und auf mindestens 1 Stunde oder länger in 20%ige Silbernitratlösung gebracht. 2. Abspülen in 3—4 mal erneuertem, 20%igem Formol (mit Brunnenwasser angesetzt), bis keine weißen Wolken mehr abgehen. Etwa 10 Minuten. Unterdessen bereitet man folgende Lösung: Liqu. ammon. caust. wird tropfenweise zu 5—10 ccm einer 20%igen Silbernitratlösung zugesetzt, bis der braune Niederschlag nach heftigem Schütteln eben wieder voll-

ständig verschwunden ist. Dann wird auf je 1 ccm der Lösung je 1 Tropfen Ammoniak in flachem Schälchen zugesetzt. Hierein bringt man einen Schnitt aus dem Formol und beobachtet bei schwacher Vergrößerung. Erfolgt noch Bindegewebs- und Kernfärbung, so ist ein neuer Schnitt in ammoniakalische Silberlösung mit etwas mehr Ammoniak (z. B. 3 Tropfen auf 2 ccm) zu übertragen, bis man erreicht, daß ausschließlich die Achsenzylinder in feinsten Fibrillen tiefschwarz auf farblosem Grund erscheinen. 4. Dann wird sofort in dest. Wasser 8 ccm + Ammoniak 2 ccm für 1 Minute übertragen, vergoldet usw. Die Methode gibt auch für die multipolaren Nervenzellen des Sympathikus, die Spinalganglienzellen, peripheren Nervenfasern usw. ausgezeichnete Resultate.

988. Viel gebraucht für Wirbeltiere sind die **Silberimprägnationsmethoden von R. y Cajal:**

Um Fibrillen in kleinen und mittelgroßen Nervenzellen darzustellen, legt R. y Cajal (03, 04) ca. 3 mm große, frische Stücke auf 3 Tage in 0,75—3%ige Silbernitratlösung bei 30—35°C ein, größere Objekte (z. B. Rückenmark des Kaninchens) kommen auf 5 Tage in dieselbe Lösung. Die Stücke werden 1 Minute in destilliertem Wasser gewaschen und dann in die Reduktionsflüssigkeit: 1—2 g Pyrogallussäure oder Hydrochinon, Formol 5 ccm, destilliertes Wasser 100 auf 24 Stunden übertragen, dann wieder einige Minuten mit dest. Wasser gewaschen und in Zelloidin eingebettet. Paraffineinbettung ist nicht ausgeschlossen, nur werden die Schnitte brüchig. 0,75%ige Lösungen von Silbernitrat verwendet man für Embryonen und neugeborene Tiere, 3%ige für ausgewachsene Säugetiere. Resultate: Fibrillen in Zellen und Fasern, Neuroglia aber nicht, werden bei allen Wirbeltierklassen, Embryonen wie Ausgewachsenen, dargestellt.

Um Achsenzylinder markhaltiger Fasern und Neurofibrillen großer Zellen zu imprägnieren, fixiert man die Objekte in 96%igem Alkohol 24 Stunden, behandelt dann mit einer 1%igen Silbernitratlösung bei 30—35°C 4 Tage. Nach ganz kurzem Abspülen in dest. Wasser kommen die Stücke in Hydrochinon 2, Wasser 100, Formol 5 auf 24 Stunden; weitere Behandlung wie vorhin. Resultate: Achsenzylinder kaffeeschwarz, Neurofibrillen braun, Körbe der Purkinjeschen Zellen braun. Ist die Farbe zu schwach ausgefallen, so behandelt man die Schnitte kurze Zeit mit der Lösung: sulfocyansaures Ammonium 3 g,

unterschwefliges Natrium 3 g, dest. Wasser 100 ccm, 1%ige wässer. Goldchloridlösung einige Tropfen.

Für marklose Fasern und Endverzweigungen modifiziert man die vorhergehende Methode, indem man in Alkohol 3 Tage härtet, sonst aber gleich verfährt.

Um Neurofibrillen großer Zellen und feine Nervenfasern zu färben, kann man auch in 96%igem Alkohol mit Zusatz von 0,5—1% Ammoniak (für größere Stücke 1,5%) 24—36 Stunden härten, in dest. Wasser waschen, mit 1,5%iger Silberlösung 3—5 Tage bei 30 bis 35°C behandeln und in 2%iger Hydrochinonlösung mit 5%igem Formolzusatz 24 Stunden reduzieren. Weitere Behandlung wie vorher. — Statt Alkohol kann man als Härtungsflüssigkeit: Formol 20, Wasser 100, Ammoniak 0,5 24 Stunden verwenden; in diesem Falle muß vor dem Versilbern 12 Stunden lang in fließendem Wasser gewaschen werden. Diese letztere Methode eignet sich für die Färbung von Nervenendigungen, man wendet aber eine 3%ige Silberlösung an.

v. Lenhossék empfiehlt als Nachbehandlung der Schnitte Goldchloridlösung 5—30 Minuten (4 ccm einer 1%igen Goldchloridlösung auf 150 ccm Wasser). Die Fibrillen erscheinen dann schwarz auf farblosem Grunde.

989. Liesegang (11) wendet das Cajalsche Verfahren auf Gefrierschnitte an, indem er der Entwicklerlösung ein Schutzkolloid, z. B. Gummiarabikum zusetzt. Von Formolgehirngefrierschnitten wird die etwa 1%ige Silberlösung nach Stunden oder Tagen bis auf etwa 2 ccm abgegossen und etwa 2 ccm einer 50%igen Lösung Gummiarabikum und dann etwa ebensoviel einer konz. Lösung von Hydrochinon in dest. Wasser beigefügt. Nach 1—2 Minuten wird das Ganze in 10%ige Lösung von unterschwefligsaurem Natron gegossen. Abwaschen in Leitungswasser und weiter wie oben.

990. Kató (08) bringt zur Nervenfärbung mit sicherem Resultat in 10—15%iger Formollösung fixierte dünne (5 mm) Blöcke 1—5 Tage bei 35°C in die Argentamin-Silberlösung (zu 5% Argentaminlösung wird 3%ige frische Silbernitratlösung zugesetzt, bis ein sich bildender weißer Niederschlag dauernd schwindet; dann filtrieren) bis das Stück sich braunschwarz färbt, wäscht einige Minuten in Aq. dest. überträgt auf einige Tage in Hydrochinon 1, Formol 10, Aq. dest. 100, dann Alkohole, Paraffin, 3 μ Schnittdicke.

991. Cowdry fixiert 2—6 Stunden in Carnoy, wäscht 24 Stunden in dest. Wasser und legt 3 Tage lang in 1,5%iges

Silbernitrat bei 39° (einmal Wechseln), Abspülen in dest. Wasser und Reduzieren in: Pyrogallussäure 1 g, Formol 5 ccm, dest. Wasser 100 ccm im Dunkeln während 24 Stunden. Auswaschen in dest. Wasser, 1 Stunde 96%iger Alkohol, 2 Stunden abs. Alkohol, 2 Stunden Zedernholzöl, 3 Stunden Paraffin (60°); Einbettung; Schnittdicke 3 μ.

Die entparaffinierten Schnitte kommen aus dest. Wasser 2 Stunden in eine 0,1%ige Goldchloridlösung, die mit Lithiumkarbonat neutralisiert wurde, dann 5 Minuten in 5%ige Fixiernatronlösung und 6 Stunden in fließendes Wasser. Nun färbt man gegebenenfalls in 1%iger wässeriger Lösung von Toluidinblau o. dgl. die Nißl-Substanz, dann Entwässern, Xylol, Balsam.

992. Sehr gute Resultate gibt die **Silbermethode von O. Schulze** (18).

1. Vorbereitung: Gefrierschnitte von Formolmaterial werden zunächst längere Zeit ausgewaschen, wodurch gewisse Substanzen, die für den Ausfall der Reaktion hinderlich sind, entfernt werden. O. Schulze bezeichnet diesen Vorgang als Entschlackung, wobei er zwischen einer neutralen und einer basischen E. unterscheidet. Bei der ersteren werden die Schnitte im Thermostaten (60°) 24 Stunden lang in dreimal erneuertem dest. Wasser ausgewaschen. Bei der letzteren läßt man auf die Schnitte eine 5—50fach mit Wasser verdünnte Normal-Natronlauge einige Stunden bis zum folgenden Tag einwirken. Hierauf wird 5—10 Minuten in dreimal gewechseltem dest. Wasser abgespült. Auch mit verdünnter Salpetersäure kann man entschlacken. Die besten Resultate bekommt man, wenn man zuerst die neutrale und dann noch die basische Entschlackung anwendet.

2. Imprägnierung. Sodann kommen die Schnitte für 12—24 Stunden in 2%ige Silbernitratlösung, in welcher sich die Schnitte bräunen. Aus der Silberlösung werden die Schnitte direkt in die Hydrochinonformollösung übertragen, deren richtigen Konzentrationsgrad zu treffen der springende Punkt der Methode ist. Man löse 2,5 g Hydrochinon in 100 ccm dest. Wassers und füge 5 ccm Formol zu. Von dieser Stammlösung bereitet man sich eine zweite fünffach und eine dritte zwanzigfach verdünnte Lösung, die gut durchgeschüttelt werden müssen. Man versuche zuerst die zwanzigfache verdünnte und an einem zweiten Schnitt die fünffach verdünnte Lösung. Die Stammlösung wirkt meistens zu rasch. Die Reduktion setzt nach einigen Sekunden ein und ist in einigen Minuten beendigt. Dann Abspülen in Wasser, Entwässern, Xylol, Balsam.

Vergoldung ist unnötig. Resultat: Prachtvolle Darstellung von Kernen und Gliazellen, sowie deren Produkten und Fasern. Will man nur Achsenzylinder und Fibrillen darstellen, so nehme man die stärkere Natronlauge. Färbung des Bindegewebes kann durch starke Silberlösung (10%) vermieden werden. Vorteile der Methode sind die Einfachheit und Raschheit der Methode, die Vermeidung von Niederschlägen und die Verwendbarkeit auch verhältnismäßig sehr dicker Schnitte (50 μ).

993. Joris H. färbt Nervenfibrillen mit kolloidalem Gold. Fixierung in Sublimat, Formol, Essigsäure, Salpetersäure, Pikrinsäure sind zulässig, nicht aber Bichromate, Osmiumsäure. Kleine Stücke vom zentralen Nervensystem werden in Eisessig 5, Sublimat 8, dest. Wasser 100, oder Formol 10, Salpetersäure 6, Wasser 100 fixiert; in ersterem Falle 4—6 Stunden, im zweiten 24 Stunden. Die Fixation kann auch nach Bethe § 749 erfolgen. Nach dem Fixieren spült man mit dest. Wasser ab (kurze Zeit) und überträgt auf 8—12 Stunden in Ammoniummolybdat 5 g und dest. Wasser 100 ccm. Man durchtränkt mit Paraffin durch Chloroform, indem man das Verweilen in Alkohol möglichst abkürzt, schneidet etwa 10 μ dick, klebt mit Wasser an. Das Paraffin wird mit Chloroform gelöst; die Schnitte werden in Alkohol übertragen und dann 1—4 Stunden, mit oft zu wechselndem Wasser behandelt, um Ammoniummolybdat bis auf Spuren zu entfernen. Nun werden die Schnitte mit einigen Tropfen einer 1,5-%igen wäss. Lösung von **kolloidalem Gold** bedeckt, und etwa nach ¼ Stunde sind die Fibrillen gefärbt. Man wasche mit Wasser usw. und schließe in Kanadabalsam ein. Das kolloidale Gold löst sich langsam; je frischer die Lösung, desto rascher färbt sie. Zunächst erscheinen die Fibrillen schwach gefärbt, sie dunkeln aber in Alkohol und Chloroform nach. Die Präparate halten sich unverändert. Wie Joris bemerkt, sind einige Neuronen, z. B. die des Olivenkernes, Zellen der molekularen Schicht im Groß- und Kleinhirn usw. dieser Färbung unzugänglich. (Das kolloidale Gold ist von de Heyden, Radebeul bei Dresden, zu beziehen.)

3. Darstellung der markhaltigen Fasern.

α) Die Weigertsche Markscheidenfärbung.

994. Weigert hat im Laufe der Zeit seine ursprünglichen Vorschriften in mehrfacher Weise modifiziert.

Paula Mayer hat unter Edinger schließlich die einzelnen Methoden verglichen und dabei folgende Methode als die beste gefunden:

1. Fixierung in 10%igem Formol.

2. Erste Beizung der nicht zu dicken Stücke in der **Weigertschen Markscheidenbeize** (Kaliumbichromat 5 g, Fluorchrom 2,5 g, dest. Wasser 100 ccm, nach Kochen Erkaltenlassen und Filtrieren). Dauer der Beizung 4—14 Tage. Oder statt dessen 14 Tage bis Wochen in 5%iger Kaliumbichromatlösung. Die weiße Substanz soll zuletzt überall braun, nicht gelb aussehen.

3. Auswaschen in 70%igem Alkohol (im Dunkeln), bis er sich nicht mehr färbt.

4. Celloidineinbettung (Alkoholcelloidin).

5. Zweite Beize der Schnitte oder Stücke mindestens 24 Stunden bei 37° in **Weigerts Neurogliabeize.**

Herstellung: Man löst durch Kochen 2,5 g Fluorchrom in 100 ccm Wasser. Wenn die Lösung siedet, löscht man die Flamme, setzt 5 ccm Essigsäure (ca. 35%ig) zu und dann unter fortwährendem Umrühren mit einem Glasstab 5 g fein gepulvertes neutrales Cuprum aceticum. (An Stelle des Fluorchroms kann man in gleicher Menge auch Chromalaun nehmen).

6. Abspülen in 70%igem Alkohol und Färben 24 Stunden in **Weigerts Eisenhämatoxylin für Markscheidenfärbung.**

Herstellung: a) 4 ccm officin. liqu. ferri sesquichlorat., 96 ccm dest. Wasser; b) 10 ccm einer 10%igen alkoholischen Hämatoxylinstammlösung, 90 ccm 96%iger Alkohol. Kurz vor Gebrauch mischt man gleiche Teile a und b. Die Hämatoxylinstammlösung muß mindestens ½ Jahr alt (gereift) sein.

7. Differenzieren in

Borax	2 g
Ferricyankalium (rot. Blutlaugensalz)	2,5 g
dest. Wasser	100 ccm

bis die weiße Substanz (Markscheiden) schwarz, die graue Substanz dagegen hellgelblich bis bräunlich ist.

8. Waschen in Brunnenwasser 24 Stunden. Eventuell unter Zusatz von etwas Lithionkarbonatlösung.

9. Entwässern, Xylol, Balsam.

Resultat: Markscheiden schwarz bis blauschwarz, graue Substanz hellgelb. Außerdem können sich auch die roten Blutkörperchen und Fibrinfäden schwarz färben.

995. Nach Dürck färben sich bei Anwendung des W.-Eisenhämatoxylins auch Kerne, Tigroidschollen, Neuro-

keratin, elastische Fasern, sowie eigenartige, telegraphendrahtähnliche Fasern im Bindegewebe (Dürcksche Fasern).

996. Statt des Eisenhämatoxylins verwandte Weigert früher ein**Lithionhämatoxylin** von folgender Zusammensetzung: a) Hämatoxylin 1 g, abs. Alkohol 10 ccm (reifen!); b) konz. wässerige Lösung von Lithion carbonic. 1 ccm, dest. Wasser 90 ccm. Unmittelbar vor Gebrauch werden a und b vereinigt.

997. Ursprünglich fixierte Weigert in Müllerscher Flüssigkeit und kupferte die in Zelloidin eingebetteten Stücke nur in einer gesättigten wässerigen Lösung von Cupr. acetic. neutr., die zur Hälfte mit Wasser verdünnt war, 24—48 Stunden bei 37°C. Weitere Beizung ist dann unnötig, doch dauert die Vorbehandlung mit Müllerscher Flüssigkeit sehr lang (Rückenmark z. B. 3 Monate, Gehirn 5—6 Monate). Waren die Müllerpräparate schon in Alkohol gelegen, so werden die Schnitte vor dem Färben 24 Stunden in 0,5%iger Chromsäure gebeizt.

998. Bei dem folgenden Verfahren nach Weigert ist die Differenzierung unnötig.

1. Die nach § 994 oder § 997 fixierten Stücke kommen für 24—48 Stunden bei 38°C in eine Mischung einer kaltgesättigten wässerigen Lösung von Cupr. acetic. und einer 10%igen wässerigen Lösung von Tartar. natronat. (Seignettesalz) zu gleichen Teilen.

2. Kupfern in Cupr. acetic. (gesättigte wässerige Lösung) 24 Stunden.

3. Abspülen in dest. Wasser, Einlegen in 80%igen Alkohol.

4. Schnitte davon werden in nachfolgendem **Lithionhämatoxylin** 12—24 Stunden gefärbt (a) gesättigte wässerige Lösung von Lithion carbonic. 7 ccm + 92 ccm dest. Wasser; b) Hämatoxylin 1 g + abs. Alkohol 10 ccm. Kurz vor Gebrauch mischt man 9 Teile a mit 1 Teil b.

5. Auswaschen mit Wasser, Entwässern, Xylol, Balsam.

Resultat: Markhaltige Fasern: dunkelblau bis schwarz, Grund: farblos bis hellrosa. Der Zelloidinrand ist manchmal bläulich. Will man letztere Farbe entfernen, so braucht man nur mit 0,5%iger Essigsäure auszuwaschen, was jedoch bei zarten Objekten (z. B. Großhirnrinde) nicht empfehlenswert ist.

β) Modifikationen der Weigertschen Methoden.

999. Sehr gut ist die Methode von Kultschitzky, die auch die feinsten Markfasern tiefschwarz zur Darstellung bringt, was bei den Weigertschen Methoden nicht immer der Fall ist.

1. Fixierung in 10%iger Formalinlösung, Chromierung in Müllerscher Flüssigkeit oder besser 4—5 Tage in der

Weigertschen Neurogliabeize (s. § 994, 5), Alkohol. Einbettung in Alkohol-Zelloidin.

2. Färbung der Schnitte 12—24 Stunden in

10%ige alk. Hämatoxylinlösung (mindestens 6 Monate alt)	10 ccm
dest. Wasser	90 ccm
Eisessig	2 ccm

3. Direktes Übertragen in

konz. wässerige Lithionkarbonatlösung . .	100 ccm
1% wässerige Ferrizyanidlösung	10 ccm

4. Gründliches Auswaschen in Brunnenwasser.

5. Entwässern, Xylol, Balsam.

Die Differenzierung in Nr. 3 geht sehr langsam vor sich; sie kann 4—12 Stunden dauern. Nach der ersten Stunde muß man die Differenzierungsflüssigkeit ein bis zweimal wechseln. War das Material nicht genügend chromiert, so kann man die Schnitte zur Nachchromierung noch 8—14 Tage in Müllersche Flüssigkeit und hierauf 24 Stunden in 1%ige Chromsäurelösung legen. Vor der Färbung spült man mit dest. Wasser ab.

1000. Noch besser ist die Methode in der Kombination nach Wolters § 1002.

1001. Palsche Methode. 1. Fixierung in Müllerscher Flüssigkeit, Erlickischer Fl. (s. § 131) oder 10%igem Formol, Entwässern in Alkohol, Einbettung in Alkoholzelloidin. Die Schnitte kommen entweder gleich in die Farbe, oder, wenn sie grünlich statt braun sind, auf einige Stunden in 0,5%ige Chromsäure oder 2—3%ige Kaliumbichromatlösung.

2. Färbung 24—48 Stunden in der Weigertschen Lithionhämatoxylinlösung (§ 1025).

3. Gründliches Wässern im Brunnenwasser und Einlegen in eine frisch bereitete 0,25%ige Lösung von übermangansaurem Kalium für 20—30 Sekunden.

4. Abspülen in Wasser und Differenzieren in einer frisch hergestellten Lösung von Oxalsäure 1 g, Kalium sulfuros. 1 g, dest. Wasser 200 ccm.

Die Differenzierung ist gewöhnlich in ½—3 Minuten beendet. Die graue Substanz ist dann völlig entfärbt; ist dieselbe noch braun gefärbt, so bringt man wieder in Nr. 3 zurück usw. Man muß jedoch darauf achten, daß nicht auch die Markscheidenfärbung angegriffen wird. Nach vollendeter Differenzierung muß gründlich in Brunnenwasser gewaschen werden. Dann ev. Nachfärbung mit Borax- oder Lithionkarmin. Entwässern, Xylol, Balsam.

1002. Der Palschen Methode vorzuziehen ist die Methode von **Wolters,** bei der die Palsche mit der Kultschitzkyschen kombiniert wird.

Bei ihr werden die Präparate zunächst ganz wie in § 999, 1 und 2 behandelt. Nach der Färbung in essigsaurem Hämatoxylin werden die Schnitte aber nicht in Lithionkarbonatlösung gebracht, sondern in Müllersche Flüssigkeit eingetaucht, dann in eine 0,25%ige Lösung von übermangansaurem Kali übertragen und nach Pal weiterbehandelt (also nach § 1001, 3 und 4).

1003. Um Markscheiden in Paraffinschnitten zu färben, fixiert Streeter in Kaliumbichromat 5 g, Fluorchrom 2 g, Wasser 100 ccm 4—8 Tage bei Zimmertemperatur (einmal wechseln). Dann werden die Stücke 1—2 Wochen mit oft gewechseltem 80%igem Alkohol gewaschen und 4—6 Tage in Weigertschem Lithionhämatoxylin (§ 996) durchgefärbt (nach dem 1. und 3. Tag erneuern). Auswaschen in 70%igem Alkohol 48 Stunden, abs. Alkohol usw. Einbettung in Paraffin. Die mit Eiweiß aufgeklebten Schnitte werden nach Weigert oder Pal differenziert.

1004. Nach Vastarini Cresi (15) schädigt die Zelloidineinbettung auch bei langer Beizung die markhaltigen Fasern, so daß namentlich isoliert verlaufende Fasern dabei ihre Markhülle verlieren. Gefrierschnitte zeigen dagegen ihre Markhülle auch an den feinsten Fasern. V. beizt daher Formolmaterial nach 24stündigem Auswaschen in Wasser 7 Tage bei 19°C in Ammoniumbichromat 5 g, Fluorchrom 2,5 g, Wasser 100 ccm (3—4 mm dicke Scheiben). Auswaschen in Wasser und Schneiden auf dem Gefriermikrotom (40—50 μ). Zweite Beizung 24 Stunden bei 37° in der Weigertschen Neurogliabeize (s. § 994). Auswaschen in Wasser und Färbung usw. nach § 994.

γ) Weitere Methoden für Markscheidenfärbung.

1005. Sehr empfindlich ist die Methode von O. Schultze (06), mit der sich die Markscheiden auch auf frühen Entwicklungsstadien schon nachweisen lassen, bei denen die gewöhnlichen Methoden versagen, da Kaliumbichromat als Fixierungsmittel die Markscheide nur zum Teil erhält, so daß sehr geringe Mengen leicht übersehen werden.

Kleine mit 1%iger Osmiumsäure fixierte Stücke werden in 1%ige Kaliumbichromatlösung übertragen, die zum Auswaschen der Osmiumsäure in 24 Stunden mindestens dreimal gewechselt wird. Dann Übertragen

in 50%igen Alkohol (im Dunkeln) für 24 Stunden. Einlegen in eine gereifte 0,5%ige Hämatoxylinlösung (70%iger Alkohol) für 24—28 Stunden, je nach der Größe. Auswaschen in 70%igem Alkohol 1—2 Tage usw. Einbettung in Paraffin oder Zelloidinparaffin. Die Stücke sind tiefschwarz (Schnittdicke daher unter 5 μ). Auch die feinsten Markscheiden sind schon als dünne Ringe zu sehen. »So kommt es, daß Objekte, in denen man in der Regel nur marklose Fasern annahm, wie z. B. im Marke junger Amphibienlarven, bereits massenhaft markhaltige Fasern zeigen...«

1006. Flechsig (76) machte darauf aufmerksam, daß die Nervenbahnen bei Embryonen und jungen Tieren nicht gleichzeitig Markscheiden bekommen (markreif werden). Er gründete darauf eine Methode zur Erforschung des Faserverlaufes im Zentralnervensystem.

1007. Markscheidenfärbung nach E. Fraenkel. Formolmaterial wird 4—8 Tage in der Weigertschen Markscheidenbeize (s. § 1024, 2) chromiert, direkt mit 70%igem Alkohol gewaschen, bis der Alkohol völlig klar bleibt (wichtig!) und in Zelloidin eingebettet. Die Schnitte werden 6—12 Stunden in flachen Schalen mit Grüblers polychromem Methylenblau gefärbt, mit destilliertem Wasser abgespült und für 4—8 Stunden in konz. wässerige Karminlösung übertragen. Dann Abgießen derselben und Übergießen mit destilliertem Wasser, solange bis dasselbe völlig klar bleibt. Dann wiederholt man die Behandlung mit Methylenblau, Karmin und dest. Wasser nochmal. Zuletzt nach gründlichem Waschen in dest. Wasser 96%iger Alkohol, Öl, Xylol, Balsam. Die Markscheiden sind scharf blau gefärbt. (Das Übertragen der leicht brüchig werdenden Schnitte erfolgt auf dem Spatel oder Objektträger.)

1008. Markscheidenfärbung am Gefrierschnitt nach Spielmeyer. 1. Von dem mindestens 3 Tage in Formol fixierten und dann 1 St. gewässerten Gewebsblock kommen 25—35 μ dicke Schnitte für 6 Stunden in eine 2,5%ige Lösung von Eisenalaun. 2. Nach Abspülen in Wasser werden sie für 10 Minuten in 70%igen Alkohol (nicht höherprozentig) und von hier 3. auf ca. 12 Stunden in eine alte Hämatoxylinlösung (5 Teile einer 10%igen alkoholischen Hämatoxylinlösung auf 100 Teile dest. Wasser) übertragen. 4. Abspülen in Wasser und Differenzieren in der Eisenalaunlösung. 5. Auswaschen, Entwässern, Xylol, Balsam.

Resultat: Markscheiden schwarz.

Wichtig ist mit einer alten, zur gleichen Färbung womöglich schon mehrfach benutzten Hämatoxylinlösung zu arbeiten, die man hernach immer wieder in die Flasche zurückfiltriert. Wenn die Färbekraft der Hämatoxylinlösung noch nicht groß ist, so ist der Färbungs- und Differenzierungsprozeß ein- bis zweimal zu wiederholen.

1009. Markscheidenfärbung nach **W. H. Schultze** (17 b). 1. Gefrierschnitte von Formol-fixierten Objekten kommen ½ bis 2 Stunden in eine 0,2%ige Osmiumsäure.

2. Abspülen in mehrfach gewechseltem dest. Wasser und Einlegen in eine filtrierte 1%ige wässerige Lösung von Paraphenylendiamin, die am besten einige Tage alt ist. Man färbt bis der Schnitt ganz schwarz geworden ist (ca. 15—60 Minuten).

3. Einlegen in eine ⅓%ige Lösung von übermangansaurem Kali (15—30 Sekunden).

4. Abspülen in Wasser und Differenzieren in einer Mischung von 1%iger Oxalsäure und 1%iger Kaliumsulfuros.-Lösung (aa) ½—10 Minuten. Ist die Differenzierung nicht genügend, so wiederholt man 3 und 4 nochmals.

5. Auswaschen in Wasser, Entwässern, Xylol, Balsam. Alle, auch die feinsten Markscheiden sind gefärbt, auch bei älterem Formolmaterial.

1010. H. Müller (17) fixiert möglichst dünne Stückchen in: Cadmiumchlorid 60 g, Formol 100 ccm, Brunnenwasser 100 ccm (viel Flüssigkeit nehmen). Nach 4—5 Tagen oder später überträgt man direkt in 96%igen Alk. und bringt durch abs. Alk. und Xylol in Paraffin. Die gut aufgeklebten Schnitte kommen nach Entparaffinieren: 1. In eine konz. wässr. Lösung von Kupfersulfat (7—8 Stunden bei 37° C, gut verschließen!). 2. Kurz, aber kräftig abspülen mit Wasser. 3. Färben durch Auftropfen der Hämatoxylinlösung (s. u.), bis die Schnitte gleichmäßig dunkelblaugrau sind (ca. 5 Min.).

Herstellung: Man verdünnt unmittelbar vor Gebrauch gleiche Teile einer konz. Lösung von Hämatoxylin in 95%igem Alkohol, die einige Tage im Licht gestanden hat, und von 95%igem Alkohol.

4. Abspülen in Brunnenwasser und differenzieren in: Borax 2 g, Ferricyankalium 2,5 g, dest. Wasser 200 ccm, bis myelinfreies Gewebe bezw. das Bindegewebe gelbgrün erscheint. 5. Gründliches Wässern, Alkohol usw. Balsam. Wird das Präparat bei Nr. 4 rostbraun, so sind die Reagenzien nicht rein. Die Färbung der Markscheiden muß bei richtiger Ausführung sehr scharf dunkelblau sein.

Die Methode kann auch bei Gefrierschnitten ausgeführt werden. Man fixiert 3 Tage oder länger in Cadmiumformol, schneidet ohne Auswässern mit dem Gefriermikrotom, fängt in 50%iger, wässeriger Cadmiumchloridlösung auf und überträgt für 7—8 Stunden (bei 37° C) in eine konzentrierte wässerige Kupfersulfatlösung. Dann Durchziehen durch Wasser und Färben der gut ausgebreiteten (!) Schnitte in der Hämatoxylinlösung. Differenzieren usw.

Die Methode eignet sich auch zur Darstellung zahlreicher anderer Gewebe mit lipoidartigen Substanzen. Man färbt dann nach Lorrain Smith-Dietrich (vgl. § 592).

1011. Die Färbemethode nach **Marchi** (85) hat besondere Bedeutung für die Darstellung frisch degenerierender, markhaltiger Fasern. Man fixiert dünne Scheiben mindestens 8 Tage, jedoch nicht länger als 5 Wochen, in öfters gewechselter Müllerscher Flüssigkeit, die zum Gelingen der Reaktion unerläßlich ist. Hierauf beizt man ohne Auswaschen das in höchstens 2—3 mm dicke Scheiben zerlegte, auf gewaschener Glaswolle liegende Material 8—12 Tage in einer frisch hergestellten Mischung von 2 Teilen Müllerscher Flüssigkeit und ein Teil 1%iger Osmiumsäure, wobei man von Zeit zu Zeit vorsichtig umschüttelt. Nach einigen Tagen ist das Gemisch zu erneuern. Dann wäscht man 24 Stunden in fließendem Wasser, führt in 12 bis 24 Stunden durch Alkohol und bettet in 10 bis 24 Stunden in Zelloidin ein. Die möglichst bald angefertigten, nicht zu dünnen Schnitte kommen durch Alkohol und Xylol in Balsam.

Resultat: Die Degenerationsherde sind intensiv schwarz gefärbt. Die Alkoholbehandlung und Einbettung hat so rasch wie möglich zu erfolgen, um eine Lösung der osmierten Substanzen zu vermeiden. (Vgl. § 568.) Unter Umständen kann man statt durch Alkohol auch in einigen Stunden durch Azeton entwässern. Bei der Fixierung sind Quetschungen des Materials peinlich zu vermeiden, da gequetschtes Material positive Marchi-Reaktion gibt. Ferner ist zu beachten, daß ganz frische Degenerationsprozesse durch die Marchi-Reaktion nicht dargestellt werden. Sie tritt gewöhnlich erst 8—10 Tage nach der Läsion auf.

Anm. Über Methoden für ganz frische Degeneration vgl. Donaggio, Riv. speriment. di Freniatria bei Biondi (15) Neurologisches Zentralblatt 34. p. 178—184.)

4. Die Darstellung der Neuroglia.

1012. Zur Darstellung der **Faserstrukturen der Neuroglia** kommt, besonders bei menschlichem Material, vor allem die Methode von Weigert (95) in Betracht.

1. Fixierung. Man fixiert möglichst frisches Material (nicht über 0,5 cm dicke Scheiben, besser dünner) mit 10%igem Formol (also 1 : 4) in reichlicher Menge (auf Filtrierpapierlage). Die Flüssigkeit ist nach dem 1. Tag zu wechseln; etwa 4 Tage genügen zur Fixierung. Die so fixierten Stücke können jahrelang ohne Nachteil für die Neurogliafärbung in Formol aufbewahrt werden.

2. Beizung. Die in Formol fixierten Stücke kommen in die Weigertsche Neurogliabeize (Herstellung s. § 994,5), und zwar bei 37° C auf 4—5 Tage, bei Zimmertemperatur auf etwa 8 Tage.

Will man nur die Neuroglia gefärbt erhalten, so ist es besser, die frischen, nicht über 0,5 mm dicken Scheiben für 8 Tage gleich direkt in die Beize zu bringen, der man 10% Formol zugesetzt hat. Die Flüssigkeit muß am 2. Tage gewechselt werden.

3. Einbettung. Nach der Beizung wird kurz mit Wasser abgespült, mit Alkohol entwässert und in Zelloidin oder besser in Paraffin eingebettet; auch Gefrierschnitte sind möglich.

4. Reduktion. Nicht über 20 μ dicke Schnitte kommen auf etwa 10 Minuten in eine $\frac{1}{3}$%ige Lösung von Kalium hypermanganicum, werden dann durch zweimaliges Aufgießen von dest. Wasser kurz gewaschen und in eine Mischung von Chromogen (Höchster Farbwerke) 10 g, Ameisensäure (spez. Gew. 1,20! nicht die offizinelle!) 10 ccm, dest. Wasser 100 ccm, gebracht, von der man vor Gebrauch 90 ccm (nach Filtration) mit 10 ccm, einer 10%igen Lösung von Natrium sulfurosum (einfach schwefligsaures Natron) versetzt. Schon nach wenigen Minuten sind die durch das Kal. hyperm. gebräunten Schnitte entfärbt, doch läßt man sie besser noch 2—4 Stunden in der Lösung. Dann wäscht man wieder durch zweimaliges Übergießen mit dest. Wasser ab.

5. Färbung. Dazu benutzt man eine heiß gesättigte und nach Erkalten vom Bodensatz abgegossene Lösung von Methylviolett in 70—80%igem Alkohol, zu der man auf 100 ccm 5 ccm einer wässerigen 5%igen Oxalsäure zusetzt. Damit färbt man die auf dem Objektträger faltenlos ausgebreiteten Schnitte einige Minuten, läßt ablaufen und über-

gießt für etwa 30 Sekunden mit einer Jodjodkaliumlösung (gesättigte Lösung von Jod in einer 5%igen Jodkaliumlösung).

6. Differenzierung des mit glattem Fließpapier abgetrockneten Schnittes in einer Anilinöl-Xylolmischung (1 : 1!).

7. Sorgfältiges Auswaschen des Anilinöls mit Xylol. Kanadabalsam. Bei ungenügendem Entfernen des Anilinöls bleichen die Präparate rasch aus. Resultat: Die Gliafasern sind scharf blau gefärbt, ebenso die Zellkerne; das Protoplasma und das Bindegewebe ist ungefärbt.

1013. Oft ist es vorteilhafter, Achsenzylinder, Ganglienzellen und Ependymzellen in gelblicher Kontrastfärbung zu erhalten; dann schiebt man nach der ersten Reduktion (Nr. 4) folgende zweite Reduktion ein, indem man die Schnitte nach Abspülen in dest. Wasser für etwa 12 Stunden in eine konz. wässerige sorgfältig filtrierte Chromogenlösung (5%ig), bringt, dann zweimal wieder mit Wasser übergießt; hierauf weiter färben nach Nr. 5 usw.

Dabei wird allerdings auch das Bindegewebe später violett blau gefärbt; doch wird gleichzeitig die Gliafaserfärbung durch kräftigeren Ton verstärkt.

1014. Können die Schnitte nach Nr. 4 nicht gleich gefärbt werden, so kann man sie in 90 ccm 80%igem Alkohol + 10 ccm 5%iger Oxalsäure einige Tage aufheben.

1015. Leider mißlingt die Färbung aus unbekannten Gründen öfters, auch bei genauer Befolgung der Vorschriften. Außerdem hat man mit der Methode meist nur bei menschlichem Material Erfolg. Nach Spielmeyer wird die Färbung dadurch oft begünstigt, daß man den entparaffinierten Schnitt vor der Reduktion (Nr. 4) einige Stunden in 2,5%iger Eisenalaunlösung beizt.

1016. Spielmeyer verwendet ferner statt der alkoholischen Methylviolettlösung Weigerts mit Erfolg eine Karbolmethylviolettlösung nach folgender Formel:

gesättigte alkoholische (96%) Methylviolettlösung	5 ccm
abs. Alkohol	10 »
5%iges Karbolwasser	ad 100 »

und zwar stellt er eine aus Methylviolett 5 B und eine aus Methylviolett B her. Man färbt bei 37° in verschließbaren Tuben zuerst 20 Minuten in der ersteren, dann 10 Minuten in der letzteren; dadurch erhält man eine leichte, rötlich-violette Anfärbung des Gliaprotoplasmas.

1017. Bartel fixiert und beizt nach Weigert, bettet in Paraffin ein und behandelt dann die nicht aufgeklebten Schnitte ohne das Paraffin zu entfernen nach der Weigertschen Methode weiter, wobei sich nur die Zeitdauer sehr verlängert (übermangans. Kali ½—1 Stunde; Chromogen-Ameisensäure-Na-

trium-Sulfit 6—12 Stunden; Methylviolett 12—24 Stunden; Jodjodkalium ¼—½Stunde. Dazwischen muß immer sehr sorgfältig mit dest. Wasser ausgewaschen werden. Nach der Jodjodkalibehandlung wird der Schnitt nochmals gut gewaschen, auf einem Objektträger aufgefangen, bei 37°C getrocknet und in Anilinöl-Xylol (1 : 10 bis 1 : 100) übertragen. Hier löst sich das Paraffin. Die Differenzierung geht je nach der Verdünnung sehr langsam vor sich und ist oft erst nach 12 bis 24 Stunden zu Ende. Nach dieser Methode soll sich das Material auch noch 32 Stunden nach dem Tode färben.

1018. Pötter (15) empfiehlt folgende Modifikation der Weigertschen Methode: 1. Fixierung möglichst frisch in 10%igem Formol. Bei größeren Stücken am besten durch Injektion von der Karotis aus. Dann Einlegen in Formol mindestens 4 Tage. Von hier direkt in 70%igen Alkohol usw. Einbetten in Paraffin. 2. Die aufgeklebten Schnitte kommen nach Entparaffinieren auf 4 Tage bei 40° in Weigerts Neurogliabeize (s. § 994). 3. Nach 10 Minuten langem Abspülen in dest. Wasser kommen sie auf 2—3 Tage im Dunkeln bei Zimmertemperatur in Methol-Hydrochinon-Agfa 20 ccm auf 80 ccm dest. Wasser. 4. Nach gründlichem Abspülen in dest. Wasser werden sie auf 24—72 Stunden in eine konz. wässerige Lösung von Viktoriablau (Grübler) gefärbt. (Herstellung: Man löst den Farbstoff unter langsamem Erwärmen und läßt dann mindestens 1 Stunde bei kleiner Flamme kochen.) 5. Abtupfen mit Fließpapier (der Schnitt muß noch feuchten Glanz zeigen) und Auftropfen von 5%iger Jodjodkaliumlösung, s. § 1012, 5 (einige Sekunden). 6. Differenzieren durch Auftropfen von Anilinöl-Xylol (1 : 3); (Vorsicht, um eine zu starke Entfärbung zu vermeiden); ev. unterbricht man den Vorgang einige Male durch Eintauchen in reines Xylol, um den Grad der Differenzierung unter dem Mikroskop festzustellen. Man entfärbt so lange, bis der Untergrund farblos, die Gliafasern aber schön blau sind. Zuletzt mehrmals erneuertes Xylol und Kanadabalsam.

1019. Von den von Benda (00) angegebenen Methoden sei besonders folgende empfohlen:

Vorbehandlung:

1. Kleinste Stückchen möglichst frischen Materials kommen auf 2 Tage in 10%iges—40%iges Formalin (Schering).

2. Beizung mindestens 2 Tage in Weigerts Gliabeize. Gründliches Auswaschen (24 Stunden.)

3. Nachbeizung 2 Tage in 0,5%iger wässeriger Chromsäurelösung. 24 Stunden wässern.

4. Entwässern in steigendem Alkohol, Xylol, Paraffineinbettung. Die Schnitte kommen durch Xylol und Alkohol in Wasser.

Färbung A.

5. Beizung der Schnitte 24 Stunden in 4%iger Eisenalaunlösung.

6. Abspülen in fließendem Wasser 15—30 Sekunden.

7. 2-stündiges Färben in dünner (bernsteingelber) wässeriger Lösung von sulfalizarinsaurem Natron (Kahlbaum), die man durch Eintropfen einer konz. Lösung in 70%igem Alkohol in dest. Wasser herstellt.

8. Eintauchen in dest. Wasser und Abtupfen mit Fließpapier.

9. Färben in 0,1%iger wässeriger Lösung von Toluidinblau unter Erwärmen bis zur Dampfbildung, dann noch ca. 15 Minuten in der erkaltenden Flüssigkeit, oder statt dessen 24 Stunden in der kalten Lösung.

10. Abspülen in 1%iger Essigsäure, Abtrocknen mit Fließpapier, Eintauchen in abs. Alkohol.

11. Differenzieren in Kreosot (10 Minuten, unter dem Mikroskop kontrollieren).

12. Abtrocknen mit Fließpapier, mehrmals gewechseltes Xylol, Balsam.

Resultat: Gliafasern, Kerne und Nißl-Substanz blau, alles übrige braunrot.

1020. Gute Resultate gibt eine Methode von Mallory (01). Man fixiert dazu nach § 366, überträgt in Alkohol und bettet in Zelloidin ein. Die Schnitte kommen 15—30 Minuten in eine 0,5%ige Kaliumpermanganatlösung, werden in dest. Wasser abgespült, in 1%iger wässeriger Oxalsäure 15—30 Minuten entfärbt, in mehrmals gewechseltem dest. Wasser gewaschen und 12—24 Stunden in der in § 366 angegebenen Hämatoxylinlösung gefärbt. Resultat: Neurogliafasern blau. Bindegewebe tiefrosa.

1021. Pollak (15) fixiert 5—6 Tage bei 37°C in 1%iger wässeriger Pikrinsäure und dann 5—6 Tage bei 37°C in 5%igem Ammoniumbichromat; Zelloidineinbettung; die Schnitte kommen 5 Minuten in ⅓%ige Kaliumpermanganatlösung, nach Auswaschen 5 Minuten in 1%ige Oxalsäure, werden nach Auswaschen 20 Stunden bei 37°C in Malloryschem Hämatoxylin gefärbt und 2—2½ Stunden in ganz frisch bereiteter 30%iger alkoholischer Eisenchloridlösung differenziert; dann 15 Minuten in 95%igem Alkohol usw.

1022. Szüts (14a) verwendet mit gutem Erfolg die in § 367 angegebene Hämatoxylinlösung. Dieselbe färbt beliebig fixiertes Material (nur osmiumhaltige Lösungen sind nicht verwendbar) in 1—2 Minuten.

1023. Die **marginale Glia** stellt man nach Held folgendermaßen dar:

1. Fixierung dünner Gewebsstücke möglichst frisch in folgender Flüssigkeit: Müllersche Flüssigkeit 100 ccm, Sublimat 3 g; dazu unmittelbar vor Gebrauch Eisessig 3 ccm, Formalin 0,5 ccm. Dauer 1—6 Tage bei 37°C (am besten ist es, die Flüssigkeit durch die Gefäße zu injizieren). Zelloidineinbettung.

2. Die Zelloidinschnitte kommen auf 5 Minuten in eine Lösung von 1 g Natriumhydroxyd in 80%igem Alkohol.

3. Auswaschen in dest. Alkohol.

4. Einige Minuten langes Beizen in 5%iger Eisenalaunlösung.

5. Abspülen in dest. Wasser und Färben in folgender Hämatoxylinlösung: Man löst 1 g Hämatoxylin in 100 ccm 70%igen Alkohols und gibt Acid. molybdänic. pur. im Überschuß zu (öfters Umschütteln). Die Lösung ist zuerst blau und wird allmählich schwarz. Erst dann ist sie brauchbar. Am besten sind 1—2 Jahre alte Lösungen. Zur Färbung mischt man einige Tropfen davon mit dest. Wasser, bis man eine eben noch durchsichtige dunkelviolette Farbflüssigkeit bekommt. Hierin färbt man bei 50° 12—24 Stunden.

6. Differenzieren in 5%iger Eisenalaunlösung, bis das kollagene Bindegewebe entfärbt ist, gut Auswaschen in Wasser.

7. Gegenfärbung in Pikrinsäure-Säurefuchsin (van Gieson) 15 Sekunden.

8. 96%iger Alkohol, abs. Alkohol, Xylol, Balsam.

Resultat: Gliafasern schwarz, kollagenes Bindegewebe rot.

1024. Die **Darstellung der retikulären und plasmatischen Gliastrukturen** läßt sich am besten nach der Methode von Fieandts erreichen.

1. Man fixiert kleine, ganz frische Stückchen auf Glaswolle in reichlicher Menge (!) des Heidenhainschen Sublimattrichloressigsäuregemisches (Subtrie s. § 192) und überträgt nach 24 Stunden in 96%igen Alkohol, der im Laufe des ersten Tages dreimal, später täglich einmal gewechselt wird (wichtig!), und in dem die Objekte 5—7 Tage bleiben. Dann 2—3 Tage entwässern in abs. Alkohol und Einbettung in Paraffin nach Pranther (s. § 215).

2. Die 5 μ dicken Schnitte werden vom Paraffin befreit, mit Jod und Natriumthiosulfat nach § 175 behandelt, gut ausgewaschen und 12—24 Stunden in dem Malloryschen Phosphorwolframsäurehämatoxylin (s. § 366) gefärbt.

3. Abtrocknen mit Fließpapier und Differenzieren in einer Lösung von 5 g Ferri sesquichlorat. pur. sicc. in 50 ccm abs. Alkohol, was oft 1—2 Stunden dauert und unter dem Mikroskop kontrolliert werden muß. Die Objektträger müssen dabei so gestellt werden, daß die Schnitte nach unten sehen.

4. Abtupfen mit Fließpapier und zweimaliges kurzes Abspülen mit dest. Wasser, worin die Schnitte hellblau werden. Einlegen in abs. Alkohol auf 24 Stunden (einmal wechseln), Origanumöl, Xylol, Balsam.

Resultat: Neurogliafasern und Chromatin tiefblau, Gliaprotoplasma hellblau, Gliosomen blau, kollagenes Bindegewebe, Achsenzylinder usw. graugelb bis gelblichbraun.

1025. Um die **amöboiden Gliazellen und ihre Einschlüsse** darzustellen, fixiert Alzheimer dünne Gewebsblöcke in der Weigertschen Gliabeize mit Formolzusatz (s. § 1012, 2 Kleindruck) und wäscht mehrere Stunden in fließendem Wasser aus. 10 μ dicke Gefrierschnitte werden 2 Stunden in eine gesättigte wässerige Lösung von Phosphormolybdänsäure gebracht, in zweimal erneuertem dest. Wasser ausgewaschen und 1 Stunde in der Mannschen Methylblau-Eosinlösung gefärbt (1% wässerige Methylblaulösung : 35 ccm + 1%ige wässerige Eosinlösung : 35 ccm + dest. Wasser 100 ccm). Man spült in dest. Wasser, bis keine Farbwolken mehr abgehen, überträgt in 96%igen Alkohol (1—2 Minuten) und bringt durch abs. Alkohol und Xylol in Balsam. Resultat: Gliafasern dunkelblau, amöboide Gliazellen blau, ebenso Achsenzylinder; Markscheiden und Erythrozyten rot, Bindegewebsfasern blau.

1026. Nach Erik Müller (99) ist namentlich das Rückenmark niederer Vertebraten (besonders Myxine) ein für die Darstellung der Neuroglia sehr günstiges Objekt. Fixierung 24 Stunden in Kalziumbichromat 3% 1 Teil, Formol 4 Teile, dann 3 Tage in 3%iges Kaliumbichromat, hierauf einige Stunden in Wasser, 70%iger Alkohol usw. Färbung mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain.

1027. Neuroglia wird durch Trypsin verdaut.

B. Die Untersuchung des peripheren Nervensystems.

1028. Um **markhaltige Nerven in überlebendem Zustand** zu beobachten, fasert man kleine Stückchen eines

peripheren Nerven von einem eben getöteten Tier der Länge nach auf (z. B. vom n. ischiadicus eines Frosches). Am besten verfährt man nach der Ranvierschen Halbeintrocknungsmethode (vgl. § 759). Sind die Fasern genügend isoliert, so setzt man physiol. Kochsalzlösung zu. Man beobachte den eigentümlichen Glanz der Markscheide, den homogen erscheinenden Achsenraum, die Ranvierschen Einschnürungen (ev. auch die Lantermannschen Segmente). Die Kerne sind schwer zu sehen.

1029. Bei Zusatz von dest. Wasser verändern sich die Markscheiden rasch in eigentümlicher Weise. Die Ranvierschen Einschnürungen verschwinden, ebenso die Lantermannschen Segmente und innerhalb der Markscheiden treten eigenartige Gerinnungen auf. An den freien Enden fließt das Mark aus und gerinnt zu typisch aussehenden Myelintropfen. Letztere trifft man auch massenhaft in Zupfpräparaten der weißen Substanz des Zentralnervensystems.

1030. Um die **Myelinscheide** (Schwannsche Scheide) und die **Ranvierschen Einschnürungen** deutlich sichtbar zu machen, spannt man dünne Nerven, z. B. den n. ischiadicus eines Frosches, in situ mit Zwirn auf ein Stückchen Holz auf, schneidet ihn dann heraus und legt ihn 12—24 Stunden in 0,5%ige Osmiumsäure. Hierauf wäscht man ca. ½ Stunde mit dest. Wasser, überträgt für 2 Stunden in abs. Alkohol, hellt in Terpineol o. dgl. auf und zerfasert nun auf dem Objektträger. Es ist dazu nur das zwischen den beiden Ligaturen gelegene Stück zu gebrauchen, und zwar etwa 1 mm davon entfernt. Solche Zupfpräparate können dann direkt in Kanadabalsam eingeschlossen werden, nachdem man das überschüssige Öl mit Fließpapier entfernt hat. Resultat: Myelin (Schwannsche Scheide) schwarz, Achsenzylinder hellgelblich; Kerne gut sichtbar, ebenso die Henlesche Scheide und die Ranvierschen Einschnürungen.

1031. Darstellung der **Ranvierschen Kreuze.** Periphere Nerven beliebiger Größe werden wie in § 1030 aufgespannt, auf 12—24 Stunden in 0,5—1%ige wässerige Silbernitratlösung gelegt, kurze Zeit mit dest. Wasser gewaschen und in Alkohol übertragen.

Herstellung von Zupfpräparaten oder Einbettung in Paraffin für Längsschnitte. Außer den Ranvierschen Kreuzen werden auch die Fromannschen Linien und Grenzen

der Endothelzellen der Perineurien (lamellöse Scheiden) sichtbar. Zur Untersuchung der Henleschen Scheide behandelt man möglichst dünne Nervenfasern nach dieser Methode.

1032. Marklose Nervenfasern (Remaksche Fasern) werden am besten dargestellt, indem man den Sympathicus, oder besser, den Vagus eines Säugetiers mit Osmiumsäure behandelt und dann fasert. Zwischen den markhaltigen, schwarzen Fasern findet man zahlreiche marklose, die nahezu ungefärbt sind. In großer Menge kann man sich marklose Nervenfasern aus der Milz vom Rinde verschaffen.

1033. Die sogenannten **Neurokeratinnetze** innerhalb der Markscheide, die wahrscheinlich aus geronnenem Lecithin bestehen, stellten Kühne und Chittenden (89) durch Verdauung der Nervenfasern mit Trypsin oder Pepsin dar. Eine weitere Methode ist, die Nervenfasern mit Alkohol und mit Schwefeläther zu behandeln, wodurch die Lipoidsubstanz in Lösung geht, während das Neurokeratin nun gut hervortritt und gegebenenfalls mit Hämatoxylin gefärbt werden kann.

1034. Behandelt man nach Fleischl (74) die Nerven, um sie zu fixieren, mit Chromsäure, Alkohol oder chromsauren Salzen und zerlegt sie in Quer- oder Längsschnitte, so sieht man keine diskreten Fibrillen im Achsenraume mehr, sondern diese sind mehr oder minder zu einem dünneren (Chromsäure) oder dickeren (Alkohol)-Faden zusammengebacken — sog. Achsenzylinder.

1035. Um den **Achsenzylinder** zu isolieren, empfiehlt es sich, die Nerven mit sehr schwacher Chromsäure, etwa 0,1%, oder mit schwachem doppeltchromsaurem Kalium in etwa 0,2%iger Lösung oder in Holzessig (mit nachfolgender Safraninfärbung) einige Tage bis zu einer Woche zu behandeln und dann zu fasern. Es gelingt meistens beim Zupfen, die geronnene Markscheide stellenweise abzustreifen und so den sog. Achsenzylinder bloßzulegen. Ganz besonders große Strecken des Achsenzylinders quellen hervor, wenn man zu den frisch gezupften Präparaten Eisessig zusetzt, eine Methode, die von v. Kölliker (93) empfohlen wird.

1036. Darstellung der Neurofibrillen nach Mönkeberg-Bethe. 1. Fixierung des aufgespannten nicht zu dicken Nerven 24 Stunden in 0,25%iger Osmiumsäure. 2. Auswässern 4—6 Stunden. 3. Direktes Einlegen in 90%igen Alkohol 10 Stunden und länger. 4. Zurück in Wasser auf

4 Stunden. 5. Einlegen in eine 2%ige Lösung von Natriumbisulfit, zu welcher auf je 10 ccm 2—3 Tropfen Salzsäure zugesetzt werden, 6—12 Stunden. 6. Wasser 1—2 Stunden. 7. Durch Alkohol und Xylol in Paraffin. 8. Die 2—3 μ dicken, mit sehr verdünntem Eiweiß aufgeklebten Schnitte kommen durch Xylol, Alkohol und Wasser auf 5—10 Minuten in 1—4%ige Ammoniummolybdatlösung bei 25°C. 9. Abspülen in mehrfach gewechseltem dest. Wasser, überschichten mit 0,05—0,1%iger Toluidinblaulösung und Färben 5 Minuten bei 50—60°C. 10. Abspülen in Wasser, dann durch Alkohol und Xylol in Kanadabalsam.

Nach Bethe (04) sind die Neurofibrillen basophil und behalten die Basophilie nach Fixierung mit Alkohol. Mit Toluidinblau werden sie rötlich-violett. Da sich auch die Markscheiden etwas mitfärben, behandelt man die gefärbten Präparate längere Zeit mit Toluol, worin sich die Markscheiden entfärben, während die Fibrillen ihre Färbung beibehalten.

1037. Sehr wichtig für die Darstellung der Neurofibrillen ist auch die **Bielschowskysche Versilberungsmethode.** Da dieselbe bei der Ausführung nach § 802 auch das Bindegewebe mitfärbt, muß für die Färbung der peripheren Nerven eine kleine Modifikation ausgeführt werden. Bei Darstellung des Zentralnervensystems ist dies nicht nötig, da dasselbe hier im Innern ja fehlt. 1. Man fixiert nicht zu große Stücke in 10%igem säurefreien Formol, wäscht einige Stunden in dest. Wasser und schneidet möglichst dünn mit dem Gefriermikrotom. 2. Die Schnitte kommen aus dest. Wasser für 24 Stunden in 2—3%ige Silbernitratlösung. 3. Kurz abspülen und einlegen in die nach § 803 bereitete ammoniakalische Silberlösung 10 bis 20 Minuten. 4. Die braun gefärbten Schnitte kommen in schwache Essigsäure (1—3 Tropfen Eisessig auf 20 ccm Wasser), bis sie gelblich sind, was schon nach wenigen Minuten eintritt. 5. Reduktion in 20%iger Formalinlösung, bis keine weißlichen Wolken mehr abgehen. 6. Vergoldung der ganz blassen Schnitte in neutralem Goldbad (5 Tropfen 1%iger Goldchloridlösung auf 10 ccm Wasser) bis der Grundton rot-violett ist. 7. Fixiernatron usw. Infolge der Essigsäureeinwirkung unterscheidet sich dann das Bindegewebe durch seinen hellvioletten Ton sehr deutlich von den schwarz gefärbten Achsenzylindern. Mit dieser Methode lassen sich auch die Nervenendigungen z. B. Meißnersche, Grandrysche Körper,

motorische Nervenenden in quergestreifter Muskulatur usw. darstellen

1038. Sehr gute Resultate gibt auch die Schultze-Gros'sche Modifikation (s. § 987).

1039. Nach Boecke (09) sind die Resultate noch besser, wenn man in Formolalkohol fixiert (Formol 10 ccm, 60%iger Alkohol 90 ccm, einige Male wechseln). Zur Imprägnierung bringt man kleine Stückchen derartig fixierten Materials in 10%iges Formol, bis der Alkohol verdrängt ist, dann 3—5 Tage in 2%ige Silbernitratlösung (im Dunkeln), nach Abspülen in die ammoniakalische Silberlösung (1—2 Stunden im Dunkeln) und reduziert in 20%igem Formol. Möglichst rasche Einbettung in Paraffin. Schnittdicke 5—15 μ Vergoldung usw.

1040. Sand (10) fixiert nicht über 5 mm dicke Stückchen in wasserfreiem Azeton 90 ccm + Acid. nitric. pur. 10 ccm. Nach 1 Stunde wird die Lösung erneuert, dann nochmals nach 24 Stunden. Nach weiteren 24 Stunden kommen sie auf mindestens 6 Stunden in reines wasserfreies Azeton, das 2—3 mal erneuert wird. Dann ½ Stunde Xylol und direkt in Paraffin von 50°, das alle ½ Stunden gewechselt wird. (Dauer aber im ganzen nie länger als 2 Stunden.)

Die 5—10 μ dicken, mit Eiweiß aufgeklebten Schnitte kommen nach Paraffinbefreiung auf 3 Tage im Dunkeln bei 37°C in eine frisch bereitete, 20%ige Silbernitratlösung. Sodann werden sie ohne auszuwaschen für 10 Minuten in folgende, stets frisch zu bereitende Lösung: Natr. acet. 10 g; Gallussäure 5 ccm; Tannin 3 g; Wasser 1000,0; gebracht. Hierauf kommt der Schnitt noch in folgende Lösung: 2%ige Lösung von cyanschwefelsaurem Ammonium 17 ccm; 2%ige Goldchloridlösung 3 ccm; dest. Wasser 80 ccm; nach 5—10 Minuten rasch abspülen, eintauchen in 5%iges Fixiernatron, abwaschen, Alkohol, Xylol, Balsam. Resultat: Neurofibrillen grauviolett.

Darstellung der Nervenendigungen.

1041. Um die Endverzweigung der Nerven im **frischen Präparat** zu beobachten, wähle man kurze Muskeln, wie Augenmuskeln, Interossei. Man legt kleine Stückchen davon auf einen Objektträger, fasert mit Nadeln vorsichtig der Länge nach, setzt dann 1%ige Essigsäure zu und bedeckt mit einem Deckglas. Nach ein paar Stunden treten

die Nervenfasern deutlich hervor. Die Präparate sind haltbar.

1042. Zur Darstellung der Nervenendigungen stehen hauptsächlich drei Verfahren zu Gebote: Die Färbung mit Methylenblau, die Vergoldungsmethode und die Silberimprägnierung nach Bielschowsky.

1. Die vitale Methylenblaufärbung.

1043. Diese von P. Ehrlich (85) eingeführte Methode gestattet, Nerven und Nervenendigungen beinahe in allen Organen, mit Ausnahme des Zentralnervensystems, mit ziemlicher Sicherheit darzustellen. Eine ausführliche Schilderung der Methode gibt Dogiel (10).

Die Färbung kann in verschiedener Weise vorgenommen werden. A. Durch Injektion der Farblösung in die Blutgefäße. B. Durch Einspritzungen in natürliche Höhlen des Körpers (Pleura-, Peritonealhöhle usw.). C. Durch Einspritzen in das Bindegewebe des zu untersuchenden Organes oder D. Durch unmittelbares Einlegen von Organen bzw. Organteilen in die Methylenblaulösung.

In allen Fällen gebraucht man Methylenblau (bezogen von Dr. Grübler in Leipzig unter der Marke »für vitale Färbung«) gelöst in 0,75%iger chemisch reiner Kochsalzlösung in dest. Wasser. Man nimmt für A. eine $\frac{1}{4}$—$\frac{1}{6}$%ige Methylenblaulösung; für B. $\frac{1}{4}$—$\frac{1}{8}$%ige; für C. eine $\frac{1}{6}$—$\frac{1}{8}$%ige und für D. eine $\frac{1}{4}$—$\frac{1}{6}$—$\frac{1}{8}$% Lösung. Die Lösungen dieser Konzentrationen können leicht aus einer 1%igen Methylenblaulösung hergestellt werden.

A. Die Blutgefäße der Organe oder die des ganzen Tieres, wenn dasselbe klein ist, werden mit physiologischer Kochsalzlösung, welche auf 37 °C gewärmt ist, ausgespritzt; erst dann wird eine auf 37° C erwärmte Methylenblaulösung injiziert. Nach 20—30 Minuten werden ganze Organe oder, wenn sie größer sind, 1—2—3 cm große Stücke derselben herausgeschnitten und auf Glaswolle, welche mit $\frac{1}{5}$—$\frac{1}{15}$%iger Methylenblaulösung gut angefeuchtet ist, in eine flache Schale übertragen; diese schließt man mit einem nicht fest schließenden Deckel und stellt sie in einen auf 36 °C erwärmten Thermostaten. Nach 10—30 Minuten oder, bei größeren Stücken, auch 1, 1½, 2 Stunden werden die Präparate aus dem Thermostaten herausgenommen und wie weiter unten angegeben, fixiert.

Sind die Organe konsistent, so mache man davon 15 Minuten nach der Methylenblau-Injektion Rasiermesser-

schnitte und behandle sie in ähnlicher Weise, d. h. befeuchte mit $^1/_{15}$% Methylenblaulösung und setze in einer feuchten Kammer in den Thermostaten. Alle 5 Minuten werden die Schnitte mit dem Mikroskop angesehen, um die Nervenfärbung zu kontrollieren.

Bei Kaltblütern wird die ganze Prozedur bei Zimmertemperatur ausgeführt: man injiziert $^1/_4$—$^1/_8$%ige Lösung; nach ½—1—2 Stunden wird das zu untersuchende Organ freigelegt und nach 20—30 Minuten herausgeschnitten, um fixiert zu werden. Methylenblau wird unter Luftabschluß zu farbloser Leukobase, welche in Berührung mit Sauerstoff der Luft wieder blau wird. Einige Forscher führen in diesem Stadium des Verfahrens Sauerstoff zu. — Bei der Methode B. und C. verfährt man mutatis mutandis in analoger Weise wie bei A.

D. Ganze Organe oder Stücke derselben von 1—2 cm Größe, in einzelnen Fällen sogar von größeren Dimensionen, werden herausgeschnitten und auf den mit Glaswolle bedeckten Boden einer flachen Schale gebracht und mit Methylenblau benetzt; nachdem man die Schale mit einem nicht luftdicht schließenden Deckel bedeckt hat, bringt man das Ganze in einen Thermostaten (36°C); in demselben verbleibt das Präparat 1—2, höchstens 2½ Stunden und wird dann fixiert. Während das Präparat im Thermostaten verweilt, wird es von Zeit zu Zeit mit einer $^1/_{15}$%igen Methylenblaulösung befeuchtet, damit es nicht eintrocknet. Auch bei dieser unmittelbaren Färbung wird an Kaltblütern bei Zimmertemperatur operiert.

Von derben Organen, wie z. B. die Wachshaut des Schnabels oder der harte Gaumen von Wasservögeln, werden Schnitte mit Rasiermesser hergestellt und auf einem Objektträger mit $^1/_6$—$^1/_8$%iger Methylenblaulösung benetzt, in einer feuchten Kammer wie oben gefärbt; die Schnitte dürfen nicht schwimmen und müssen vor Verdunstung durch Befeuchten geschützt werden. Die Färbung geht hierbei sehr rasch, in 10—15—20 Minuten, vor sich; dann wird fixiert.

Bei allen diesen Methoden sind kleine Modifikationen, welche dem Charakter des ganzen Verfahrens nicht zuwider sind, selbstverständlich zulässig.

Hat man nun nach einer der vorgetragenen Methoden die Nerven mit Methylenblau gefärbt, so muß die sonst vergängliche Färbung fixiert werden. Dazu gebraucht man entweder pikrinsaures oder molybdänsaures Ammonium oder beide Salze nacheinander.

1044. Um mit **pikrinsaurem Ammoniak** (von Grübler bezogen, explodiert beim Erhitzen!) zu **fixieren,** überträgt man die Präparate, wenn die Nerven intensiv genug gefärbt erscheinen, in nicht zu wenig einer konzentrierten wässerigen Lösung auf 2—6—12—24 Stunden, je nach der Stückgröße, auf keinen Fall länger wie 48 Stunden. Dann wird in Glyzerin und Fixierungsflüssigkeit zu gleichen Teilen eingeschlossen. — Sind die zu untersuchenden Präparate zu undurchsichtig und dick, so muß man sie in zweckmäßiger Weise mit Nadeln, Pinzetten und Scheren zerteilen, indem man sie zupft, aufschneidet, in Lamellen zerreißt usw. — Fügt man zu 100 ccm der Fixierungsflüssigkeit 1—2 ccm 2%ige Osmiumsäure hinzu, so kann man die Präparate nachträglich mit Pikrokarmin färben und wie vorhin einschließen.

1045. Molybdänsaures Ammonium gebraucht man zur Fixation von Methylenblaupräparaten in 5—8%iger Lösung bei Zimmertemperatur. Die gefärbten Präparate kommen sofort in ziemlich viel Fixierungsflüssigkeit, je nach der Größe auf 10 Minuten bis 24 Stunden; langer Aufenthalt in derselben schadet den Präparaten nicht. Dann wäscht man die Präparate in einer großen Menge dest. Wassers, welches man, wenn nötig, wechselt, und überträgt sie in abs. Alkohol, worin sie nur möglichst kurze Zeit, nicht länger als gerade zur Entwässerung nötig ist, verweilen dürfen, jedenfalls nicht länger als 6 Stunden, Xylol, Kanadabalsam. Um die histologischen Elemente besser zu erhalten, setzt man zur Fixationsflüssigkeit Osmiumsäure hinzu, etwa 4—6 Tropfen einer 1%igen Lösung auf 100 ccm; die Weiterbehandlung bleibt im übrigen die gleiche.

Will man fixierte Stücke mikrotomieren, so überträgt man sie aus abs. Alkohol in mitteldicke Zelloidinlösung auf einige Stunden, klebt sie auf einen Holzblock und härtet das Ganze in 70%igem Spiritus. Will man nicht sofort schneiden, so bringt man die Blöcke in Wasser, worin die Färbung selbst bei 2—3tägigem Aufenthalt nicht geschädigt wird (Markovitin). Um in Paraffin zu schneiden, fixiere man nach Bethe, § 1046. Die Paraffineinbettung greift aber die Farbe unter Umständen doch sehr an.

Das 1. Fixationsverfahren wird bei dickeren Präparaten und der Retina, das 2. bei dünnen Flächenpräparaten und bei Präparaten, welche in Schnitte zerlegt werden, angewandt. Man kann, wenn man z. B. in pikrinsaurem

Ammoniak fixierte Objekte schneiden will, diese nachträglich in molybdänsaures Ammonium überführen, kombinierte Fixierung.

1046. Um Methylenblaupräparate zu fixieren, empfiehlt Bethe (95) folgendes Gemisch: **Ammoniummolybdat** 1 g, dest. Wasser 10 ccm, **Wasserstoffsuperoxyd** 1 ccm und offiz. Salzsäure 1 Tropfen. Darin bleiben die Stücke bei + 2 bis — 2°C, je nach der Größe, kleinere 2—3, größere (bis 1 ccm) 4—5 Stunden, hernach noch einige Zeit bei Zimmertemperatur. Sie werden dann ½—2 Stunden in dest. Wasser gewaschen, mit kaltem Alkohol entwässert und mit Paraffin oder Zelloidin durchtränkt. Nachfärbung mit Alaunkarmin oder Anilinfarben ist zulässig. Setzt man nach einiger Zeit der Fixierungsflüssigkeit Osmiumsäure zu, so wird die entstehende Methylenblaufärbung dunkler und alkoholbeständiger.

1047. Weiter empfiehlt Bethe (96), namentlich — um die niedere Temperatur der vorigen Methode zu umgehen — folgende Verfahren: nach dem Vorgang von Smirnow und Dogiel benutzt er als Vorfixierungsflüssigkeit eine konz. wässerige Lösung von pikrinsaurem Ammonium (Ammoniumpikrat), in welcher die mit Methylenblau behandelten, nicht zu großen Objekte 10—15 Minuten verweilen. Ohne zu spülen, überträgt man dicke Objekte (für Totalpräparate) 1. in **Ammoniummolybdat** (oder phosphormolybdänsaures Natron) 1 g, dest. Wasser 20 ccm und offiz. Salzsäure 1 Tropfen. Für dieselben Zwecke dienen auch weitere Mischungen. 2. Ammoniummolybdat (oder phosphormolybdänsaures Natron) 1 g, dest. Wasser 10 ccm, 2%ige **Chromsäurelösung** 10 ccm und Salzsäure 1 Tropfen. Für Schnittzwecke oder bei sehr dünnen Totalpräparaten wende man 3. Ammoniummolybdat (oder phosphormolybdänsaures Natron) 1 g, dest. Wasser 10 ccm, ½%ige Osmiumsäure 10 ccm und Salzsäure 1 Tropfen an. In sub 1. und 2. genannten Flüssigkeiten belasse man kleine Objekte ¾—1 Stunde (nicht länger), in sub 3. angegebenen 4—12 Stunden. Nach dem Fixieren wird in Wasser gewaschen, Alkohol, Xylol, Paraffin. Nachfärbung mit Alaunkarmin, Alauncochenille oder neutralen Anilinfarben kann ausgeführt werden.

Weitere Angaben und Literatur bei Michailow (10) und Dogiel (10).

1048. Kreibich (13) empfiehlt zur Färbung der marklosen Nervenfasern und der Nervenendigungen das

von Unna eingeführte **Rongalitweiß** (vgl. § 612). Man spritzt eine 0,2—1%ige Lösung in physiol. Kochsalzlösung subkutan, intrakutan oder intraperitoneal ein, schneidet die betreffende Stelle nach 10—60 Minuten aus und wartet die bei Luftzutritt besonders an den Schnittstellen eintretende Bläuung ab. Eventuell legt man Rasiermesserschnitte an. Unter Umständen gibt das Einlegen frischer Organstückchen in die Farblösung noch bessere Resultate. Schwachprozentige Lösungen färben mehr die Endausbreitungen des Nerven, höherprozentige die größeren Nervenstämme. Ist die Färbung hinreichend stark, dann fixiert man 30—60 Minuten in 5%iger wässeriger Ammoniummolybdatlösung. Dann Auswaschen in Wasser; abs. Alkohol, Xylol, Paraffin.

2. Vergoldungsmethoden.

1049. Von den hierfür angegebenen Methoden seien als die relativ sichersten besonders die von Löwit-Fischer und von Ranvier angeführt. Im übrigen gilt auch hier das in § 1009 gesagte. Am leichtesten gelingen Vergoldungen bei Reptilien (besonders bei Pseudopus Pallasii, Chamäleon und Gecko), dann kommen die Säuger. Ungünstig sind Vögel, Amphibien und Fische, doch sollen Augenmuskeln von Knochenfischen nicht ungeeignet sein.

1050. Die **Löwitsche Methode.** (Löwit 75, Fischer 76, Bremer 82.) Kleine Muskelstückchen (1 mm) werden in verdünnte Ameisensäure (Ameisensäure 1 Teil, dest. Wasser 2 Teile) gelegt, bis sie durchsichtig werden (10—20 Minuten). Von hier werden sie für 15—60 Minuten in eine kleine Menge einer 1%igen Goldchloridlösung übertragen, worin sie gelb werden (Grabower (02) u. a. nehmen eine 0,25%ige Lösung). Sodann kommen die Stücke in die oben genannte Ameisensäure zurück und verbleiben darin 24 Stunden in Dunkelheit. Man kann dann noch für ebensolange in konz. Ameisensäure übertragen (im Dunkeln). Zuletzt werden die Stücke mit dest. Wasser gewaschen und auf dem Objektträger gezupft. Der zentrale Teil der Stücke ist gewöhnlich violett, der periphere schmutzigbraun. Zwischen beiden Schichten findet man die am besten imprägnierten Nervenfasern und Endapparate.

1051. Kühne (86) säuert mit ½%iger Ameisensäure vor, behandelt die Stücke mit 1%igem Goldchlorid und reduziert mit 20 bis 25%iger Ameisensäure, gelöst in Glyzerin und Wasser zu gleichen Teilen.

1052. Ranvier bringt kleine Stückchen zunächst in **Zitronensaft,** bis sie durchscheinend werden (ca. 5 bis

15 Minuten). Der frisch ausgepreßte Zitronensaft wird durch Flanell filtriert; nur der Saft frisch gereifter Zitronen ist brauchbar. Nach kurzem Abspülen in dest. Wasser überträgt man auf 20—60 Minuten in 1%ige **Goldchloridlösung,** spült wiederum kurz mit dest. Wasser ab und bringt in schwach angesäuertes Wasser (1 Tropfen Eisessig auf 30 ccm Wasser oder 1%ige Essigsäure). Hierin bleiben sie 24—48 Stunden, am besten auf weißer Unterlage in hellem Sonnenlicht.

1053. Da bei so behandelten Präparaten die Reduktion des Goldes keine vollständige ist, dunkeln sie meist nach. Dies ist nicht der Fall, wenn man statt der verdünnten Essigsäure verdünnte Ameisensäure (A. 1 Teil + dest. Wasser 2 Teile) 24 Stunden im Dunkeln einwirken läßt.

1054. Golgi (80 u. 94) säuert mit ½%iger Arsensäure vor, statt Goldchlorid gebraucht er Goldchloridkalium ½%ig ½ Stunde, spült mit Wasser ab und bringt dann in 1%ige Arsensäure, worin die Reduktion im Sonnenlichte vor sich geht.

1055. Muschenkoff empfiehlt:

Objekte, nicht über ½ ccm, kommen entweder in 2%ige doppelchromsaure Ammoniaklösung oder in doppelchromsaures Kalium derselben Konzentration auf etwa 30 Tage. Nach dem Waschen werden die Stücke in frischen Zitronensaft oder in 20%ige Ameisensäure auf 15—20 Minuten übertragen und nach Abspülen mit dest. Wasser in ½%ige Goldchlorid- oder Goldchloridkaliumlösung auf ½ Stunde eingelegt. Reduziert wird in mit Essigsäure etwas angesäuertem Wasser.

1056. Golgis Nervenendorgane in den Sehnen der Säugetiere und Vögel werden gleichfalls durch Vergoldung dargestellt.

1057. Die Vergoldung der Nervenenden in der glatten und in der Herzmuskulatur ist eine äußerst unsichere.

1058. Stöhr (94) empfiehlt folgende Methode: Eintauchen in eine Mischung von 8 Teilen Goldchlorürlösung zu 1% und 2 Teilen reiner Ameisensäure (die Mischung muß dreimal gekocht werden), 40—55 Minuten lang. Auswaschen in dest. Wasser. Übertragung in eine Mischung von reiner Ameisensäure 10 Teile, und dest. Wasser 40 Teile. Reduktion am Licht 36 Stunden lang. Aufbewahren in Spiritus im Dunkeln.

1059. Für Behandlung der Schnitte mit Goldchlorid verfährt **Nabias** (04) in folgender Weise: Schnitte, Objekten entnommen, welche in Alkohol, Sublimat, Flemmingscher Flüssigkeit oder Osmiumsäure fixiert wurden, werden mit

Wasser aufgeklebt, getrocknet und entparaffiniert. Man unterwirft sie den folgenden Manipulationen. a) Behandlung mit Jodlösung (Jod 1, Jodkalium 2, Wasser 300—1000) wenige Minuten. b) Spülung mit Wasser. c) Behandlung mit 1% Goldchloridlösung 3—6 Minuten; die Schnitte werden weiß. d) Spülen mit dest. Wasser. e) Spülen in Anilinwasser (1 ccm Anilinöl auf 100—1000 Wasser). In 1 oder 2 Minuten werden die Schnitte violett. Man lasse aber die Schnitte nicht zu dunkel werden. f) Waschen mit dest. Wasser etc. Statt Anilinwasser wird auch Resorzin, 1 : 100 : 1000—10000 empfohlen. Unter anderem sind die Neurofibrillen deutlich gefärbt.

1060. Merton H., 07, vergoldet Schnitte in folgender Weise: In Hermannscher Mischung fixiertes Material wird in Schnitte zerlegt und je 10 Minuten mit 3%iger Tanninlösung, 5%iger Brechweinsteinlösung, 1%iger Goldchloridlösung und Anilinwasser behandelt. Zwischen den einzelnen Lösungen werden die Schnitte mit dest. Wasser ausgewaschen.

3. Über die Darstellung der Nervenendigungen durch Silberimprägnation s. § 1037 ff.

1061. Gad (95) teilte folgende Methode von Sihler zur Darstellung der Nervenenden in den quergestreiften Muskeln mit: Muskelbündel in der Dicke eines Gänsekieles werden auf etwa 18 Stunden in ein Gemisch von

Essigsäure	1 ccm
Glyzerin	1 ccm
Chloralhydratlösung 1% wässerig.	6 ccm

eingelegt, in reinem Glyzerin weiter gezupft und dann in die Färbeflüssigkeit

2. Ehrlichsches Hämatoxylin . . .	1 g
Glyzerin	1 ccm
Chloralhydratlösung 1%ige . . .	6 ccm

übertragen, worin die Stücke 3—10 Tage verweilen. Die Stücke werden nun in Essigsäure-Glyzerin eingelegt, worin die Farbe differenziert wird, und zwar so, daß die Nerven und Nervenenden an den Muskeln und Gefäßen intensiv tingiert werden, das übrige hell erscheint. Aus der Farbe 2 kann man die Stückchen in reinem Glyzerin aufheben und erst später mit Essigsäure (Lösung 1) behandeln. Nach Sihler auch von Balter für sensible Organe des Muskels empfohlen.

21. Kapitel. Herz, Blut- und Lymphgefäße. Injektionsmethoden.

1062. Für Übersichtsbilder der **Herzmuskulatur** eignen sich mehr oder weniger alle gebräuchlichen Fixierungsmethoden. Schöne Präparate der Muskelelemente gibt Fixierung in Formol-Alkohol und Imprägnierung nach Bielschowsky oder besonders Fixierung in Sublimatgemischen (nach § 183 oder § 191 ff.) und Färbung mit Vanadium- oder Eisenhämatoxylin. Ferner seien die Methoden von Mallory und von Pasini empfohlen. Vgl. auch § 921 f.

1063. Über die Darstellung der **Purkinjeschen Fäden** vgl. § 952 ff.

1064. Bei Einbettung in Paraffin wird die Muskulatur leicht sehr hart. Man vermeide Toluol und verfahre nach § 215. Blutgerinnsel sind nach Möglichkeit zu entfernen, da sie sehr hart und schwer schneidbar werden. Einbettung in Zelloidin ist vorzuziehen.

1065. Endo- und Perikard können nach § 664—669 versilbert, mit der Pinzette abgezogen und in Glyzerin oder Kanadabalsam eingeschlossen werden.

1066. Zur Darstellung des **intrakardialen Nervensystems** spült Michailow (08 und 10) 1½—2 Stunden nach dem Tode des Tieres das isolierte Herz in Ringerscher Lösung von 37°C völlig blutleer und zerlegt es dann in der warmen Lösung mit dem Rasiermesser in dünne Schnitte. Diese kommen zur Färbung in Petrischalen (bei 38—39°C), die mit angefeuchtetem Filtrierpapier (Ringerlösung) ausgelegt sind. Dann tropft man auf die gut ausgebreiteten Schnitte in Abständen von 15—30 Minuten mit einer Pipette die erwärmte Farblösung auf und färbt, bis der Farbton genügend kräftig ist.

Herstellung der Farblösung: Man erwärmt 200 ccm Ringerlösung auf 60°C und gibt dann allmählich 1 g Methylenblau rektif. nach Ehrlich zu. Diese ½%ige Stammlösung verdünnt man dann auf $^1/_8 - {}^1/_{32}$%ig. Die schwächeren Lösungen geben eine elektivere Nervenfärbung, während die stärkeren sehr leicht auch das Bindegewebe mitfärben. Leitet man durch die Farblösung Sauerstoff, so wird die zur Färbung der Nervenelemente nötige Zeit erheblich verkürzt.

Zur **Fixierung der Färbung** bringt Michailow die gefärbten Schnitte in reichliche Mengen von folgender auf 37°C angewärmten Lösung, die vor Gebrauch filtriert werden muß: Molybdänsaures Ammonium 8 g; Formalin (Schering) 0,5 ccm; dest. Wasser 100 ccm. Nach 24 Stunden

wäscht man ebensolange in Wasser aus (große Präparate bei 37°C), entwässert ½—2 Stunden in Alkohol und bringt durch Xylol in Damar-Xylol.

1067. **Große Gefäße** fixiert man beliebig und bettet sie in Zelloidin ein. Färbung für elastische Fasern mit Resorzinfuchsin § 814 f. oder Orzein § 818; für Bindegewebe nach § 796, 802, 810 o. dgl.

1068. Hat man in Paraffin eingebettet, so läßt man die Schnitte am besten vor Paraffinbefreiung auf den Farblösungen schwimmen (vgl. § 305) und fängt erst zuletzt die Schnitte auf einem Objektträger auf. Man vermeidet auf diese Weise Faltenbildungen, die gerade bei Gefäßen sehr leicht auftreten.

1069. Behandelt man die Media von Blutgefäßen einige Stunden mit Kali (Natron)lauge, Drittel-Alkohol (24 Stunden oder länger) oder 1%iger Weinsäure, so lassen sich stellenweise elastische Membranen, Netze und Fasern durch sorgfältiges Spalten und Zupfen isolieren.

1070. **Kleine** und **kleinste** Gefäße (ohne vasa vasorum mit einer dünnen [aus einer Reihe Muskelelemente bestehenden] Muskulatur, in der Arterie zirkulär und der Vene der Länge nach verlaufend) studiert man an kleinen ausgeschnittenen Stückchen der mit Formalin fixierten Pia mater des menschlichen Gehirns, welche ausgebreitet wie Schnitte behandelt und z. B. mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt werden können. Dieselben, aber auch die kleinsten der mittleren studiere man an Schnitten durch verschiedene Organe, vornehmlich an denen der Lunge, die in der Nähe des Hilus derselben gewonnen wurden, **Lymphgefäße** an den großen Lymphknoten und Gefäßen z. B. der Inguinalgegend.

Über die Beobachtung der Hautkapillaren in lebendem Zustand vgl. § 66 und Weiß E. (18).

1071. Man kann die **Kapillaren** und allenfalls kleine Arterien und Venen an etwas nachgedunkelten, versilberten (s. § 664) dünnen Lamellen, die z. B. mit Hämatoxylin nachgefärbt worden sind, untersuchen.

Noch bessere und sichere Resultate für die Untersuchung derselben Objekte erhält man, wenn man einem durch Chloroform getöteten Frosch z. B., den man durch Abschneiden der Herzspitze verbluten ließ, eine dünne (1—5‰ige) Silbernitratlösung, oder Silber-Gelatine, s. u., in die Gefäße einspritzt, bis das ganze Gefäßsystem gefüllt ist (Frosch 10 bis 15 ccm). Von so vorbehandelten Fröschen können Mesenterien, Lungenalveolen, Harnblase entnommen, abgespült, mit Alkohol fixiert und eingeschlossen werden; solche Präparate

zeigen außer den Endothelgrenzen die Grenzen der glatten Muskeln.

Herstellung der Silbergelatine: Man läßt Gelatine in Wasser quellen, drückt sie aus, schmilzt und setzt 0,1 bis 1,0 g $AgNO_3$ zu.

1072. Behandelt man Blutgefäße nach der in § 802 ff. angegebenen Methode, so färben sich in der Media starre, gradlinig verlaufende, »telegraphendrahtähnliche« Fasern, die auch im Bindegewebe zerstreut auftreten (Dürck).

Injektionsmethoden.

1073. Nicht injizierte Kapillaren kollabieren häufig so sehr, daß man sie in Schnitten oft nur schwer feststellen kann Um die Verbreitung derselben deutlich zur Anschauung zu bringen, füllt man ihr Lumen mit gefärbten Massen.

Die **Injektion** nimmt man entweder mittels einer **Spritze** oder mit Hilfe eines **Injektionsapparates** vor. Welchem Instrument der Vorzug zu geben ist, ist meist persönliche Ansichtssache. Der Geübte erzielt mit dem einen wie mit dem anderen gute Resultate.

1074. Als Spritze empfiehlt sich am meisten eine 10—50—100 ccm fassende **Rekordspritze.** Soll die Berührung mit Metall vermieden werden, dann nimmt man die ausgezeichneten, mit eingeschliffenem Glaskolben versehenen Salvarsanspritzen. Die älteren Spritzen mit Gummi- oder Lederkolben sind nicht zu empfehlen.

1075. Der Gebrauch eines **Injektionsapparates** hat vor der Spritze neben einigen Nachteilen auch manche Vorzüge. In einfacher Weise kann man sich denselben aus einem weiten Glasrohr, das sich am unteren Ende verjüngt, leicht herstellen. In die obere Öffnung bringt man zum Einfüllen einen Trichter, an die untere einen Gummischlauch, der mit einer Klemmschraube versehen ist und zur Injektionskanüle führt. Die Röhre befestigt man senkrecht mit einer Muffe an einem Bunsenstativ, so daß man durch Höher- oder Tieferstellen den Druck entsprechend einstellen kann.

1076. Für Injektionen mit warmer Masse benützt man an Stelle der einfachen Glasröhre zweckmäßig einen Liebig-Kühler, durch den man heißes Wasser leitet, während man in das innere Rohr die geschmolzene Farbmasse füllt. Das übrige wie oben.

1077. Will man bei starkem Druck injizieren, so schließt man an das obere Ende der Röhre an ein Gummidoppelgebläse an.

1078. Als **Kanülen** dienen meist Glaskanülen, die man sich in der geeigneten Größe selbst herstellt. Sollen sie im Gefäß festgebunden werden, dann versieht man sie zweckmäßig mit einer kleinen Olive. Für Injektion mit der Spritze braucht man meist mit Hahn versehene Metallkanülen, um ein Zurücklaufen der Flüssigkeit oder Eindringen von Luft beim Absetzen und Nachfüllen der Spritze zu vermeiden.

1079. Bei jeder Injektion hat man peinlichst das Einspritzen von Luftbläschen zu vermeiden. Häufig ist es zweckmäßig, vor der Injektion das Gefäßsystem blutfrei zu spülen (mit physiol. Kochsalzlösung, Ringer-, 8%iger Natriumsulfatlösung oder mit konz. wässeriger Lösung von oxalsaurem Ammonium, der zur Lähmung der Gefäßmuskulatur auf 100 ccm 5 Tropfen Amylnitrit zugesetzt sind).

1080. Die Injektion nimmt man in möglichst frischem Zustand vor. Das Tier tötet man am besten durch Narkose. Bei Warmblütern injiziert man warm (ca. 38—40°)- bei Kaltblütern bei Zimmertemperatur, da umgekehrt die Gefäße leicht zu reflektorischer Kontraktion veranlaßt werden.

1081. Totalinjektionen werden bei größeren Tieren häufig unvollständig, weshalb man sich zweckmäßig nur auf das in Betracht kommende Organ beschränkt und alle abzweigenden, unwichtigen Gefäße unterbindet.

1082. Man injiziere langsam und zunächst mit ganz schwachem Druck, den man erst allmählich etwas steigert. Die Höhe des Druckes, Menge der Injektionsmasse und Dauer der Injektion hängt vom Objekt ab und muß im Einzelfall durch Erfahrung ausgeprüft werden. Zu starker Druck ist wegen der Bildung von Extravasaten zu vermeiden.

Nach Beendigung der Injektion unterbindet man sogleich das Zuflußgefäß und kühlt das Organ ab, um die Masse möglichst rasch zur Erstarrung zu bringen. Nach 1—2 Stunden wird in Formol, Alkohol u. dgl. fixiert (s. auch unten).

Eine eingehende Behandlung der Injektionstechnik findet man bei Hoyer (10).

1083. Zur **Injektion von Blutgefäßen** benutzt man bei Warmblütern meist erstarrende Injektionsmassen (s. auch § 1080). Sind die Organe erkaltet, so müssen sie in warmer Ringerlösung vorgewärmt werden. Von den verschiedenen dazu angegebenen Vorschriften seien besonders folgende erwähnt:

1084. Rote Gelatinemasse für warme Injektion. Man löst 1 g Karmin in 1—2 ccm Ammoniak und 6—8 ccm Wasser und erhitzt in einer Kolbenflasche auf dem Sandbad solange, bis sich das überschüssige Ammoniak verflüchtigt hat (die dunkelrote Farbe nimmt dabei eine mehr hellrote Nuance an). Nach Erkalten wird filtriert. Ferner läßt man 50 g beste Gelatine 24 Stunden in dest. Wasser quellen, preßt das überschüssige Wasser mit den Händen aus und löst durch Erwärmen auf dem Wasserbad (auf 60°C, nicht höher); dann fügt man von obiger Farblösung unter ständigem Umrühren soviel zu, als zur Erzielung eines intensiven Farbtones nötig ist und digeriert, bis der Farbton hellrot wird. Dann setzt man 5—10 Volumprozent Glyzerin und 2—3 Gewichtsprozent Chloralhydrat zu (in konz. Lösung), filtriert im Heißwassertrichter durch Flanell und hebt die Masse in offener Schale unter einer Glasglocke auf.

Zur Injektion bringt man die Masse durch Einstellen in warmes Wasser (ca. 40°C) zum Schmelzen.

Der Farbstoff muß in kolloidaler Lösung bleiben. Ist zuviel Ammoniak vorhanden, so diffundiert der Farbstoff durch die Gefäßwand in die Umgebung; bei saurer Reaktion fällt er dagegen grobkörnig aus und gibt infolgedessen nur unvollkommene Injektionen.

1085. Sehr gut ist auch die Vorschrift Krauses (09), der 100 g Gelatine einige Stunden in Wasser quellen läßt und sie dann 2—3 Tage in Boraxkarmin (15 g Karmin, 100 g Borax, 2 l Wasser) färbt. Hierauf wäscht man ab, taucht sie in reichliche 2%ige Salzsäure (bis das Karmoisinrot umschlägt in Kirschrot, nicht länger!!), wäscht wieder 1 Stunde in Wasser und läßt einige Stunden abtropfen. Dann schmilzt man die Masse, zusammen mit etwas Kampher, auf dem Wasserbad.

1086. Statt Karmin kann man zu der nach § 1084 hergestellten Gelatinemasse auch eine konz. wässerige Lösung von **Berlinerblau** zusetzen (ca. 500 ccm). Die mit Berlinerblau injizierten Stücke können hierauf auch mit chromsalzhaltigen Flüssigkeiten fixiert werden. Abgeblaßte Stücke oder Schnitte erlangen in Nelkenöl ihre blaue Farbe wieder. Behandelt man sie mit Palladiumchlorürlösung, so geht die blaue Farbe in eine tiefbraune über, die unverändert bleibt (Kupffer).

1087. Bearbeitet man mit Gelatinemassen injizierte Präparate (kleine Stücke) mit Osmiumsäure, so quellen sie nicht mehr in kaltem und lösen sich nicht mehr in heißem Wasser (Ranvier 85).

1088. Eine bei 17° C noch **flüssige Gelatinemasse** erhält man nach Tandler folgendermaßen: Man löst 5 g Gelatine in 100 g Wasser unter leichtem Erwärmen, fügt dann je nach Bedarf (ob heller oder dunkler gefärbt) Berlinerblaulösung zu und setzt zuletzt langsam unter stetem Umrühren 5 g Jodkalium zu. Durch noch höheren Zusatz kann man die Masse bei noch tieferen Temperaturen flüssig erhalten.

1089. Grosser empfiehlt als kalte Injektionsmasse filtriertes **Hühnereiweiß,** welches mit Tusche verrieben wird.

1090. Hamburger (08) versetzt käufliche Tuschelösung (Günther-Wagnersche flüssige Perltusche) mit Eiweißlösung 1 : 1 oder 3 Vol. Blutserum mit 2 Vol. flüssiger Perltusche. (Pferdeserum, Rinderserum). Fixation in Sublimat. Formol.

1091. Es ist vor Jahren von Altmann (79) folgendes Verfahren vorgeschlagen worden: Man injiziert Gefäße (z. B. der Niere, Iris, Chorioidea, Retina, Haut) mit **Olivenöl**; so injizierte Organe werden mit Osmiumsäure (s. § 48) behandelt, wobei sich die injizierten Gefäße schwarz färben. Die nicht durchsichtigen massigen Organe können auf einem Gefriermikrotom in dünne Scheiben zerlegt werden, worauf sie ebenfalls in Osmiumsäure (1% auf 24 Stunden) kommen. Es werden dabei die mit Öl gefüllten Gefäße schwarz. Diese mit Osmiumsäure fixierten schwarzen Ölstränge (Gefäße) sind so widerstandsfähig geworden, daß man allerdings mit großer Vorsicht solche Schnitte auf dem Objektträger mit aqua Javelli behandeln kann, wobei sämtliche Gewebsteile gelöst werden. Auf diese Weise kann man mikroskopische Korrosionspräparate der kleinsten Gefäße und Kapillaren erhalten. — Solche Präparate können auch durch Wasser in Glyzerin oder durch Alkohol in Kanadabalsam übergeführt werden. Diese Prozedur erfordert aber besondere Sorgfalt, da die korrodierten Präparate ungemein brüchig werden.

1092. Eine andere Methode, die sogenannte Fettimprägnation der Lymphwege, ist ebenfalls von Altmann angegeben. Man bereite zu diesem Zweck entweder: 1. Olivenöl 1 Vol., Alkohol abs. ½ Vol. und Schwefeläther ½ Vol., das Ganze muß klar aussehen; oder 2. Rizinusöl 2 Vol., Alkohol abs. 1 Vol.

Man lege frische Gewebsstücke, z. B. Hornhaut, in nicht zu wenig Mischung von 1 oder 2. Nach 5—8 Tagen kommen die Stückchen aus dem Gemisch 1 oder 2 auf einige Stunden in Wasser, wobei die äußerlich anhaftenden Fetteilchen abgespült und die in den Kanälen enthaltenen niedergeschlagen werden. Es kommen die Stücke auf 24 Stunden in 1%ige

Osmiumsäure und können, wie bei den Gefäßen. entweder direkt mit aqua Javelli corrodiert werden, oder, wenn nötig, erst nachdem sie auf einem Gefriermikrotom geschnitten worden sind.

Will man die **Korrosion** möglichst sorgfältig machen und auf längere Zeit ausdehnen, so kann man aqua Javelli mit 1 oder 2 Volumen Wasser verdünnen.

1093. O. Schultze (10a) korrodiert Larven anurer Amphibien in 1%iger Chromsäure, dazu Eau de Javelle und 10%ige Kalilauge im Verhältnis von 80 : 5 ccm : 10 Tropfen (bei größeren Larven bis auf 20 ccm Eau de Javelle).

Eau de Javelle = wässerige Lösung von Kaliumhypochlorit (KClO).

Man bringt die Tiere lebend oder besser nach Formolfixation (1:4) in die Lösung.

1094. Zur **Injektion von Lymphgefäßen** ist der Gebrauch einer Spritze von etwa 2 ccm Inhalt entschieden vorzuziehen. (Am besten ist die von Bartels modifizierte »Rekordspritze«). Als Kanülen benützt man fein ausgezogene Glaskanülen, die man mit Handschuhlederstreifchen in den Spritzenansatz eindreht. Als Injektionsmassen dienen am besten die von Gerota angegebenen.

Herstellung einer blauen Masse nach Gerota-Bartels: Man verreibt 5 Minuten lang 2 g preußisch Blau (Ölfarbe in Tube) oder Berlinerblau in einer Porzellanreibschale mit 3 g reinem Terpentinöl, setzt einige Tropfen Äther zu und filtriert durch ein terpentinölgetränktes, reines Putzleder.

Zur Injektion stößt man die Kanüle ganz flach unter die Oberfläche ein, zieht etwas zurück und injiziert mit langsamem, ruhigem Druck. Nach der Injektion, die man möglichst frühzeitig vornimmt, spült man ausgetretene Farbreste unter der Wasserleitung sorgfältig ab und reibt die letzten Spuren mit einem terpentingetränkten Wattebäuschchen ab, womit man gleichzeitig eine leichte Massage verbindet. Dann läßt man das Präparat einige Stunden ruhig liegen und fixiert längere Zeit in Formalin 1 : 10. Zur mikroskopischen Untersuchung bringt man 50 μ dicke Schnitte durch Alkohol in Xylol und Kanadabalsam; weitere Angaben bei Bartels 09.

Auch die Behandlung der injicierten Gewebsstücke mit der Aufhellungsmethede von Spalteholz (s. § 494) liefert wertvolle Ergebnisse.

22. Kapitel. **Lymphdrüsen, Milz und Knochenmark.**

1095. Zu Übersichtsbildern von **Lymphdrüsen** eignen sich besonders die im Mesenterium (z. B. Katze, Kanin-

chen usw.) anzutreffenden Knoten, die man nach Fleming, Held, Helly oder Maximow fixiert. Für alle feineren Blutuntersuchungen sei besonders die Einbettung in Zelloidin-Paraffin empfohlen.

1096. Hämolymphdrüsen findet man besonders beim Schaf gut ausgebildet (hier im retroperitonealen Bindegewebe von den Nieren abwärts neben den großen Gefäßen). Man erkennt sie an ihrer dunkleren rötlichen Farbe. Bei der Ratte liegt eine relativ große Blutlymphdrüse hinter dem Pankreas. Vgl. Weidenreich, Schuhmacher.

1097. Übersichtsbilder färbe man mit Hämalaun-Eosin, nach Dominici (§ 440) oder May-Giemsa (vgl. § 446). Das Bindegewebe und Retikulum tritt bei Mallory-scher Färbung oder bei Imprägnation nach Bielschowsky sehr gut hervor.

1098. Zur Darstellung des **Endothelbelages** der Trabekel injiziert man von einem vas afferens aus oder durch Einstich in den Knoten selbst schwache (z. B. 0,1%ige) Silbernitratlösung. Nach einer halben Stunde fixiert man in Alkohol. Schnitte nicht unter 15 μ.

1099. Um das retikuläre oder adenoide Gewebe deutlich hervortreten zu lassen, werden Schnitte durch Lymphknoten, die mit dem Rasiermesser oder Gefriermikrotom frisch hergestellt sind, auf einem Objektträger gut ausgebreitet und mit einem feinem Marderhaarpinsel vorsichtig betupft. Die freien Zellen bleiben dann am Pinsel hängen, während das Retikulum zurückbleibt (**Pinselmethode,** His, 61).

1100. Schnitte von vorher fixierten Präparaten schüttelt man nach His in einem zur Hälfte mit Wasser gefüllten Reagenzröhrchen (**Schüttelmethode**). Bei Zusatz von Froschgalle erzielt man nach Böhm und Oppel in kürzerer Zeit bessere Resultate (Lösung der in den Maschen gelegenen Elemente ?).

1101. Bei längerer Bestrahlung lebender Tiere mit **Röntgenstrahlen** schwindet das lymphoide Gewebe fast ganz, während das Retikulumgewebe erhalten bleibt (H. Heinecke, Erich Meyer u. a.). Ebenso wirken **Radiumstrahlen** (Thies).

1102. Ferner kann man das retikuläre Bindegewebe durch Verdauen der Schnitte mit **Trypsin** darstellen (vgl. § 771).

1103. Mall (91) verdaut Schnitte von Lymphknoten, Milz usw. mit Pankreatin, breitet sie auf einem Objektträger

aus und läßt eintrocknen. Hierauf befeuchtet man mit einem Tropfen der folgenden Lösung: Pikrinsäure 10 g, abs. Alkohol 150 ccm, Wasser 300 ccm. Diese läßt man wiederum eintrocknen und bedeckt dann mit einem Tropfen Säurefuchsin (10 g, abs. Alkohol 33 ccm, Wasser 66 ccm). Nach einer halben Stunde gießt man ab, taucht kurz in die Pikrinsäurelösung und bringt durch abs. Alkohol in Xylol und Balsam.

1104. Flint nimmt die Verdauung in Stücken vor, die, nicht über 3 mm dick, vorher in Alkohol oder Carnoyscher Flüssigkeit fixiert werden. Formalin, Chromsäure und deren Salze, Osmiumsäure dürfen nicht zur Fixierung benützt werden. Man entwässere vollständig und verfahre weiter nach § 780.

1105. Besonders gut zur Darstellung des retikulären Gewebes eignen sich die Methoden von Bielschowsky und Achúcarro. Färbt man bei ersterer nachträglich mit Hämalaun, so sieht man neben dem Faserretikulum auch gleichzeitig das eigentliche Zellretikulum. Greschik (15) empfiehlt Pikroblauschwarz mit Azokarmin oder Mallorysche Bindegewebefärbung mit Azokarmin. Auch die in § 1319 angegebene Methode von Herxheimer bietet oft Vorteile.

1106. Um das Retikulum und Bindegewebe der **Milz** klar zur Anschauung zu bringen, spült man nach Woronin zuerst das Organ von der art. oder vena lienalis aus mit physiol. Kochsalzlösung (oder Ringer) blutleer. Dann injiziert man die gewünschte Fixierungsflüssigkeit (Formol), wobei man die ableitenden Blutgefäße sorgfältig unterbindet und den Injektionsdruck erhöht, bis das Organ das 3—4-fache des ursprünglichen Volumens angenommen hat. Die Kanüle wird abgebunden und das Organ in die gleiche Fixierungsflüssigkeit übertragen, in der es nur wenig kollabiert. Nach einiger Zeit zerlegt man es dann in Stücke und behandelt wie gewöhnlich weiter. Richtig ausgespülte Milz bekommt eine ganz helle, weißliche Farbe. Die Bestandteile rücken auseinander, das retikuläre Bindegewebe und die fixen Zellen treten mit großer Deutlichkeit hervor.

1107. Auf diese Weise gelingt es auch, die von Mollier beschriebenen **Gitter- und Faser-Strukturen der Milzkapillaren** zur Darstellung zu bringen. Färbung nach § 781.

1108. Ein analoges Verfahren läßt sich auf die Untersuchung des lymphoiden Gewebes der Darmschleimhaut durch Injektion der Blut- und Lymphgefäße, auf die Untersuchung der Lymphdrüsen durch forzierte Injektion, durch Einstich in die Sinuse usw. anwenden. Man gewinnt

so klarere Bilder, die aber immer noch innerhalb der Norm liegen können, da ja alle diese Organe großen Volumenveränderungen angepaßt sind. Färbung nach Woronin (§ 673) gibt sehr klare Bilder.

1109. Nach Böhm und Oppel färben sich die Henleschen »Fadennetze« der Billrothschen Milz-Kapillaren nicht nur mit Orzein (v. Ebner 99) und mit Resorzinfuchsin (s. § 814) sondern auch mit Säurefuchsin nach der Methode Hansens (s. § 796). Ferner nehmen sie bei Malloryscher Färbung eine blaue Farbe an (s. Mollier 11).

1110. Zur **Untersuchung der Zellen** sind die für die Darstellung der Blutzellen angegebenen Methoden (s. Kapitel 15) zu verwenden. Man untersuche sowohl an Schnittpräparaten als auch an Ausstrichpräparaten, die man sich durch Abschaben des Organsaftes einer frischen Schnittfläche verschafft. Oft ist es zweckmäßig, ein Tröpfchen des Breies mit physiolog. Kochsalzlösung (oder Ringer) zu verdünnen und die verdünnte Flüssigkeit, ähnlich wie einen Bluttropfen auf den Objektträger auszustreichen (s. § 693). Die Fixierung erfolgt bei lufttrockenen Ausstrichen nach § 696 und 698, bei feuchten Ausstrichen nach § 699—705.

Zur Darstellung der myeloiden Pulpazellen der Milz sei noch besonders auf die Methoden § 605—611 verwiesen.

1111. Der Nachweis von nicht gebundenem Eisen erfolgt nach § 644 oder 646.

Über Resorption und Ausscheidung des Eisens s. Erich Meyer (06). Ferner auch die zusammenfassende Arbeit von Schmincke (16).

1112. Um Eisen, Fett und Kerne gleichzeitig darzustellen, fixiert Wallart (06) in Formol (vgl. § 643), schneidet auf dem Gefriermikrotom und fängt in dest. Wasser auf. Die Schnitte kommen kurz in 50—70%igen Alkohol mit oder ohne 1% Salzsäure und von hier 3—15 Minuten in folgende Mischung: Lösung A: 2 g Karmin werden in 10 ccm Wasser und 8 Tropfen reiner Salzsäure unter Kochen gelöst, 40 ccm abs. Alkohol zugesetzt und tüchtig umgerührt, das ganze wird noch warm filtriert und das Filtrat auf 50 ccm aufgefüllt. Lösung B: gesättigte Lösung von Sudan III oder Scharlach R in 80—90%igem Alkohol. Lösung C: 1 g Ferrocyankalium wird in 20 ccm dest. Wasser unter Erwärmen gelöst. Vor Gebrauch mischt man 2 ccm A + 2 ccm B + 2—3 Tropfen reiner Salzsäure + 2 ccm C (zuletzt!). Wird die Mischung trüb, so wird filtriert.

Nach der Färbung spült man 30—60 Sekunden in 1%iger alkoholischer Salzsäure (50—70%iger Alkohol), wäscht in Wasser aus und legt in Glyzerin ein.

1113. Knochenmark behandelt man nach den gleichen Methoden wie Milz und Lymphdrüsen. Man entnimmt es am besten einem langen Röhrenknochen, von dem man ein Stück der Diaphyse heraussägt und den Knochenmantel dann mit Hilfe eines Meissels aufsprengt. Das derart freigelegte Markgewebe wird dann äußerst behutsam — um Quetschungen zu vermeiden — in die Fixierungsflüssigkeit — am besten nach Helly, Orth oder Maximow — übertragen. Zu Ausstrichpräparaten eignet sich rotes Knochenmark besser als gelbes. Um aus spongiösem Knochen das Mark zu gewinnen, spannt man ihn in einen Schraubstock und quetscht ihn aus. Nach mehrstündiger Bestrahlung mit Röntgenstrahlen gehen die blutbildenden Zellen des Knochenmarks in einer bestimmten Reihenfolge zu Grunde.

23. Kapitel. **Die Untersuchung von Darm und Drüsen.**

1114. Die **Mundhöhlenschleimhaut** wird in der gewöhnlichen Weise fixiert, also z. B. mit Formalin, Sublimat, nach Held (§ 101), Zenker, Flemming od. a. Für Übersichtsbilder färbe man mit Hämalaun-Eosin, nach Mallory, Dominici u. a. Faßt man Spezielles ins Auge (z. B. Epithel oder Drüsen), so hat man dementsprechende Methoden anzuwenden.

1115. Papillae filiformes trifft man besonders in der Mitte des Zungenrückens, **P. fungiformes** an der Zungenspitze, **P. circumvallatae** an der Zungenwurzel, wo auch die Zungenbälge gelegen sind. **P. foliata** findet man besonders schön an den Seitenrändern der Kaninchenzunge. (Zur Färbung seien neben den gewöhnlichen Methoden die von Mallory oder Pasini empfohlen.)

1116. Geschmacksknospen, die sich aus Stütz- und Sinneszellen zusammensetzen, trifft man besonders in den Pap. circumvall., beim Kaninchen auch in den Pap. fol. Man fixiert kleine, ganz frische Epithelstückchen der betreffenden Gegend am besten in Flemingscher Lösung und färbt die längs oder quer durch die Papille gelegten dünnen Schnitte mit Eisenhaematoxylin oder Safranin — Gentianaviolett. (Sehr genaue Orientierung der Schnittrichtung erforderlich!)

1117. Zur Darstellung der Geschmacksnerven verfährt man nach § 966, 967, 1039 oder 1043.

1118. Für **Tonsillenpräparate** eignen sich besonders die Tonsillen von Kaninchen und Katzen. Fixierung nach Held (§ 101), Zenker (§ 184), Orth (§ 132) oder Maximow (§ 186). Das epitheliale Retikulum tritt besonders bei Anwendung der Pasinischen Methode schön hervor (Mollier 13).

1119. Für Übersichtsbilder vom **Oesophagus** wähle man kleinere Tiere. Bei größeren muß man entweder die Schleimhaut mit einer dünnen Muskelschicht abpräparieren und diese allein schneiden, oder mit Zelloidin durchtränken, da sich die Muskulatur bei Paraffineinbettung schwer schneidet. Das letztere gilt für den ganzen Darm, besonders für Magen und Pylorus. Um von der Magen- und Darmschleimhaut gute Präparate zu erhalten, ist es nötig, die Präparate möglichst lebensfrisch zu fixieren, da das Epithel durch die sehr bald einsetzende Selbstverdauung sehr bald stark geschädigt wird. Das besonders bei Pathologen beliebte Abspülen der Schleimhaut mit Brunnenwasser und Abstreifen der Oberfläche mit dem Messer ist bei Stücken, die einer mikroskopischen Untersuchung unterzogen werden sollen, absolut zu vermeiden.

1120. Um ein Einrollen der Stücke zu vermeiden, ist es oft zweckmäßig, die Darmstückchen zur Fixierung auf Korkrähmchen aufzuspannen. (Epithel nach oben!) Größere Stücke fixiert man, indem man das Darmrohr nach Abbinden des einen Endes, mit Fixierungsflüssigkeit mäßig füllt und dann abbindet. Hierauf legt man das ganze noch in die Fixierflüssigkeit. Beim Auswässern werden die beiden unterbundenen Enden abgeschnitten.

1121. Sehr gute Präparate erhält man auch bei Totalinjektion nach § 101.

1122. Für Übersichtsbilder des Magens fixiert man in Formol oder Sublimat. (Glasspritze zum Füllen!) Für Schnitte durch den ganzen Magen wähle man kleine Tiere. Um das Eindringen der Alkohole und Durchtränkungsflüssigkeiten zu erleichtern, schneidet man nach der Fixierung kleine Fenster in die Magenwand.

1123. Magen-Drüsenzellen. Besonders für Sublimatschnitte ist die Doppelfärbung Hämatoxylin-Eosin geeignet. Eosin färbt bei niederen Vertebraten die gekörnten Drüsengrundzellen, während die Halszellen hell bleiben; bei Säugern färbt es die Belegzellen. Überhaupt scheinen die sauren Aniline die Belegzellen zu färben, und es können dabei

die roten mit Hämatoxylin und die blauen mit Karmin kombiniert werden.

1124. Für die Beurteilung des Materials sind folgende Daten nötig: Im Hunger sind die Belegzellen klein, die Hauptzellen mittelgroß mit basalständigem Kern und wenigen Granulationen im Zelleib (hell). In der 5. Verdauungsstunde schwellen die Belegzellen etwas an und runden sich ab, die Hauptzellen werden ebenfalls größer. 13 Stunden nach der Mahlzeit werden die Belegzellen und die Hauptzellen etwas kleiner, letztere erscheinen aber granuliert, dunkel (R. Heidenhain). Nach geringen Pilokarpingaben erscheinen die Hauptzellen groß und hell, nach größeren dagegen klein und granuliert; dabei bleiben die Belegzellen unverändert. Chloroform bewirkt Granulationen in den Belegzellen (Fichera). Während der Tätigkeit des Organs nehmen die Granula der Hauptzellen ab, um in der ruhenden Zelle anzuwachsen; ob die Anzahl der Granula hierbei im Spiele ist (Langley und Lewall) oder nur das Volumen derselben sich ändert (Noll und Sokoloff), ist eine andere Frage.

1125. Man unterlasse nicht, die **Magendrüsenzellen frisch** in isotonischen Lösungen zu untersuchen; die Magenzellen werden mehr wie andere Zellarten durch Fixierungsflüssigkeiten verändert. Besonders empfindlich sind die Belegzellengranula.

1126. Korbförmige **Sekretkapillaren** werden an den **Belegzellen** durch die Golgische Methode dargestellt. (E. Müller, 92). Zimmermann (98) bringt die nach der Golgi-Methode (s. § 966) hergestellten Schnitte in eine Mischung von 100 ccm physiolog. Kochsalzlösung und 200 ccm 96%igem Alkohols für 10—15 Min. (häufig umrühren); dann läßt man sie einen halben Tag in hellem Licht in 75—96%igem Alkohol stehen, wobei das in Chlorsilber umgewandelte Chromsilber reduziert wird. Nachfärbung mit Thionin oder Safranin. Ersteres färbt besonders schön, wenn der Fixierungsflüssigkeit (s. § 966) anstatt Osmiumsure Formalin zugesetzt wurde.

1127. Mineralsäuren (Salpeter-, Schwefel-, Salzsäure 0,5—5%) trüben und machen schrumpfen sowohl die Beleg-, als die Hauptzellen (Salpetersäure von weniger wie 0,5% bringt die Belegzellen zum Aufquellen, ebenso Essigsäure von 0,5—5%) mit steigender Konzentration immer mehr. Spült man die Säure aber mit Wasser ab, so hellen sich die Belegzellen unter Quellen auf, die Hauptzellen blei-

ben trüb und scheinen noch weiter zu schrumpfen (R. Heidenhain, 70).

1128. Zur Darstellung der **Belegzellen** färbt man Schnitte von Fundusschleimhaut nach Fixierung in Alkohol, Formol oder Sublimat in Hämalaun, wäscht gut aus in fließendem Wasser und färbt dann für 2—5 Minuten oder länger in einer verdünnten wässerigen Lösung von **Kongorot** (man löst 1 g Kongorot in 100 ccm dest. Wasser und verdünnt davon wieder 3 ccm mit 100 ccm dest. Wasser). Hierauf differenziert man in Wasser oder 50%igem Alkohol, bis das zunächst überfärbte Präparat genügend ausgezogen erscheint. Abs. Alkohol zieht den Farbstoff nur sehr langsam aus. Entwässern, Xylol, Balsam. Resultat: Hauptzellen bläulich, Belegzellen braunrot. Auch die Granula eosinophiler Zellen färben sich mit Kongorot (Stintzing, 99).

Die mit Kongorot gefärbten Präparate dürfen mit keiner Säure in Berührung kommen, da sonst der rotbraune Farbton in Blau umschlägt.

1129. Magen- und Darmepithelien können mittels der in § 424 ff. angeführten Isolationsmethoden untersucht werden; besonders eignet sich die $1^0/_{00}$ige Osmiumsäure. Das Ausfließen der freien Enden der Magenepithelien, welches bei Anwendung vieler Fixierungsflüssigkeiten erfolgt, kann man durch Fixieren mit Sublimat verhüten. Für Darmepithelien empfehlen sich Osmiumsäuregemische, speziell die Flemmingsche Lösung.

1130. Bilder über die **Fettresorption** erhält man an mit Flemmingscher Lösung behandelten Darmstücken. Die Löslichkeit des osmierten Fettes bei der Nachbehandlung (s. § 567 f.) ist bei Präparaten, die in reiner Osmiumsäure fixiert werden, viel geringer als bei Fixierung in Osmiumgemischen. — Das mit Müllerscher Flüssigkeit fixierte Fett schwärzt sich bei nachträglicher Osmierung ebenfalls. Sehr gut läßt sich die Fettresorption an isolierten Darmepithelien nach Fettfütterung (Kaninchen) demonstrieren (Methode von Ewald § 658 und Anwendung der Zentrifuge).

1131. Wie Biedermann (98) durch Fütterungsversuche mit alkannisiertem Fett nachgewiesen hat, wird das Fett vor seiner Aufnahme in die Zylinderepithelien des Darmes in seine Bestandteile, Fettsäuren bzw. Seifen und Glyzerin, wasserlösliche Verbindungen, zerlegt. Weitere Beobachtungen über die Resorption s. Altmann, Frank, Biedermann.

1132. Die Darstellung der Plastosomen erfolgt nach § 534—556. Über das Verhalten der Plastosomen des Darmepithels bei Hunger und Nahrungsaufnahme (s. Champy 11).

1133. Zotten können frisch untersucht werden in indifferenten Lösungen (s. § 47ff.); namentlich eignen sich die Zotten von Mäusen und Ziegen hierfür.

Bei allen Fixierungsmethoden hat man mit Kontraktion der axialen Muskeln der Zotten zu rechnen, welche zur Ablösung des Epithels und ähnlichen **Artefakten,** Grünhagensche Räume, Lieberkühnschen Spitzenlöcher, führen kann. Verhältnismäßig gute Resultate erzielt man mit Osmiumsäure.

Bei starker Dehnung des Darmrohres, z. B. durch Ausfüllen mit Fixierungsflüssigkeit und doppeltes Abbinden werden Zotten und Lieberkühnsche Drüsen weitgehend ausgeglichen, vgl. darüber F. P. Johnson 13.

1134. Nicht aufgeschnittene Därme weisen weniger oder keine Epithelablösungen auf, da die Muskulatur, bis die Fixierungsflüssigkeit die Zotten erreicht hat, abgestorben ist. Will man an aufgeschnittenen Darmstücken die Ablösung vermeiden, dann lasse man ihn, vor Austrocknung geschützt (z. B. auf einer mit physiol. Kochsalzlösung befeuchteten Filtrierpapierlage in einer Petrischale) etwa 30 Minuten lang liegen. Auch Muskelgifte, durch die das zu fixierende Tier getötet wird, lassen sich in schwierigen Fällen verwenden.

1135. Fixiert man nach § 1010 und färbt nach Smith-Dietrich (§ 592), so treten die unter dem Epithel gelegenen feinen Muskelzellen sehr deutlich in braunschwarzer Färbung hervor. (H. Müller 16.)

1136. Das **Mucin** in Schleimdrüsen und Becherzellen des Darmes verschiedener Tiere wird durch die basischen Teerfarbstoffe (im Sinne Ehrlichs, siehe § 386) mehr oder weniger intensiv gefärbt, z. B. durch Methylenblau und Thionin (vgl. Hoyer, 90, Hári, 01).

1137. Nach Langley (89) äußert sich die stark quellende Wirkung von Alkohol auf frische **Schleimgranula** bis zur Konzentration von 70%; stärkerer Alkohol läßt die Granula zu unregelmäßigen Formen schrumpfen. Dieselbe Wirkung äußert 0,5—2%ige Osmiumsäure. Auch Xylol soll nicht indifferent sein.

1138. Will man die Prämucingranula gut erhalten, so fixiere man nach § 1159. Auch bei Schaffer (18) findet man wertvolle Beobachtungen (vgl. auch § 1260).

1139. Vortrefflich ist zur sicheren Schleimfärbung das von Paul Mayer (96) eingeführte **Mucikarmin.** Man erhitzt dazu 1 g Karmin, 0,5 g Chloraluminium und 2 ccm

dest. Wasser über kleiner Flamme unter ständigem Rühren etwa 2 Minuten, bis das zuerst hellrote Gemisch ganz dunkel geworden ist, dann verdünnt man sogleich mit 100 ccm 50%igen Alkohols. Zur Färbung verdünnt man 1 Teil dieser Stammlösung mit 10 Teilen Brunnenwasser. (Nur ausnahmsweise färbt man mit der konz. oder mit 50 bis 70%igem Alkohol auf $\frac{1}{2}$—$\frac{1}{10}$ verdünnte Lösung.) Die Verdünnung ist im Gegensatz zur Stammlösung nur kurz haltbar. Man färbt 5—10 Minuten, wobei sich nur der Schleim rot färben darf; dann Abspülen in Wasser, Alkohol usw. Zur Färbung der Kerne färbt man vorher oder nachher mit Hämalaun.

Sind auch die Kerne rot gefärbt, so enthält die Farbe freie Säure und man neutralisiert vorsichtig durch tropfenweisen Zusatz einer 1%igen Lösung von doppelkohlensaurem Natron.

1140. Muchämatein (P. Mayer). Wässerige Lösung: Man verreibt 0,2 g Hämatein mit einigen Tropfen Glyzerin und setzt dann 0,1 g Chloraluminium, 40 ccm Glyzerin und 60 ccm dest. Wasser zu. Alkoholische Lösung: Hämatein 0,2 g; Chloraluminium 0,1 g; 70%iger Alkohol 100 ccm; Salpetersäure 1—2 Tropfen. In diesen Lösungen darf sich nur der Schleim blau färben.

Anwendung wie Mucikarmin. Zur Darstellung der Kerne färbt man vorher mit Parakarmin.

1141. Schöne Schleimfärbung bekommt man auch bei Färbung sublimatfixierter Präparate mit stark verdünntem Delafieldschem Hämatoxylin.

1142. Das Mucin löst sich in verdünnten Alkalien, z. B. in Kalkwasser, und kann aus diesen Lösungen mit Essigsäure gefällt werden. Der Niederschlag löst sich im Überschuß der Essigsäure nicht. Durch Alkohol wird Mucin gefällt, beim Kochen nicht. Mucinogen färbt sich nicht mit Hämatoxylin, wohl aber das Mucin selbst. Man kann durch diese Methoden eine tätige und eine ruhende Drüse unterscheiden. R. Heidenhain (80).

Bei der Untersuchung des Schleimes haben wir im Auge zu behalten, daß diejenigen Mucine, welche man bisher rein darzustellen vermochte (Mucin der Submaxillardrüse vom Rind, Mucin der Sehnenscheiden und des Nabelstranges, sowie die Mucine der Weinbergschnecke), zwar die wesentlichsten Eigenschaften gemein haben, jedoch durch Löslichkeits- und Fällungsverhältnisse voneinander abweichen.

1143. Die **Panethschen Zellen** kommen besonders in den einzelnen Abschnitten des Dünndarmes vor. Im Coecum und Appendix sind sie seltener, im Colon und und Rectum

fehlen sie. Sowohl hinsichtlich Verteilung wie Aussehen der Zellen bestehen zwischen den einzelnen Tierarten Unterschiede (vgl. Trautmann 11). Die Granula der Panethschen Zellen färben sich nicht mit Mucinfarben; sie färben sich mit Eisenhämatoxylin, Rubin S usw. Der basale Teil dieser Zellen ist basophil und färbt sich z. B. mit Toluidinblau. Klein 06, ferner Kull H. 11.

1144. Die Brunnerschen Drüsen des Menschen färben sich in Mucikarmin, Muchämatein und Delafieldschen Hämatoxylin nicht, sie nehmen auch keine Gelbfärbung in Safranin an. In Vesuvin werden sie schwarzbraun, während sich die Becherzellen tiefbraun, die Epithelzellen der Darmschleimhaut aber gar nicht färben (J. Schaffer).

1145. Stützgewebe des Darmrohres. Die Darstellung des elementaren Gewebes erfolgt mit Resorzinfuchsin oder Orcein, die des kollagenen und retikulären Gewebes nach Mallory, Bielschowsky, Achucarro oder Hansen.

1146. Bei Stückfärbung mit Boraxkarmin mit folgender Schnittfärbung in wässeriger 0,2%iger Lösung von Indulin 4 Stunden werden nach Maas (99) im Darm (Myxine) Kerne rot, Plasmazellen und Muskularis rosa, Bindegewebe tiefblau. — Ferner erzielt Maas (99) durch Stückfärbung in etwa 2%iger Lösung von Kongorot 2—3 Stunden, Ausspülen und schnelles Durchziehen durch schwächeren Alkohol zu Alkohol abs. mit folgender Schnittfärbung in stark verdünntem (duchsichtigen) Böhmerschen Hämatoxylin 5 bis 10 Minuten Differenzierung des Bindegewebes.

1147. Zum Studium des Darmstützgewebes empfiehlt Maas (99) bei Trypsinverdauung dem Pankreasextrakt (vom Schwein) Kongorot zuzusetzen, so daß mit dem Ende des Versuches das unverdaute Bindegewebe bereits gefärbt vorliegt. Verdaut man statt bei gewöhnlicher Temperatur in der Wärme (bei 37—42°), so sind im Gegenteil nach 2 Stunden alle bindegewebigen Bestandteile gelöst, alle zelligen noch erhalten (nach 4—5 Stunden werden auch diese gelöst). Man hat also nach Maas (99) im Pankreassaft nicht nur ein Mittel, Bindegewebe von den zelligen Elementen getrennt zu erhalten, sondern auch diese isoliert vom Bindegewebe darzustellen (fixiertes Material).

1148. Für Untersuchung der **Noduli** (s. auch § 1095 ff.) sind besonders geeignet die Peyerschen Noduli, welche makroskopisch gesucht, ausgeschnitten und z. B. mit Flemmingscher Lösung fixiert werden. Dünndarm, Coecum vom Meerschwein, Kaninchen; Processus vermiformis vom Menschen enthält eine kontinuierliche Reihe von Noduli.

1149. Die Darmschleimhaut junger Tiere ist reicher an zytogenem Gewebe wie die der alten, es nimmt im Alter fortwährend ab. Seine Menge ist bei verschiedenen Tieren verschieden: am reichsten daran sind Schwein, Mensch und Affe, weniger reich die Einhufer, Wiederkäuer und Fleischfresser. Ellenberger, 06.

Über die leukocytären Elemente der Darmschleimhaut der Säugetiere siehe P. Weill (19). Tötung der Tiere 2—4 Stunden nach reichlicher Fütterung, Fixierung 2 Stunden bei 37°C in Hellyscher Flüssigkeit (§ 185), Färbung nach § 410, 436, 446. Zur Färbung mit Methylgrün-Pyronin vereinigte Weill vor Gebrauch 35 ccm einer 1%igen Pyronin- und 15 ccm einer 1%igen Methylgrünlösung, färbte 3 Minuten, spülte rasch ab in Wasser und entwässerte in Azeton.

1150. Auerbachscher und Meißnerscher Plexus. Beide lassen sich an aufgespannten Darmstücken mit der Goldmethode (s. § 980 f.) darstellen. Aber auch in Alkohol fixierte aufgespannte Darmstücke, die mit schwachen Hämatoxylinlösungen, z. B. der Ehrlichschen (s. § 353), gefärbt werden, zeigen mitunter in blauer Farbe die genannten Plexus. (Auch ältere Methoden, Holzessig, verdünnte Essigsäure, führen zum Ziele.) An Schnitten wende man die Bielschowskysche Methode für periphere Endorgane an. § 1037 ff.

Darstellung der Schleim- und Eiweißdrüsen.

1151. Für alle **Drüsen** beachte man, daß man es nicht mit in gleichem Zustande bleibenden Gebilden zu tun hat. Die Drüsenzelle bildet ein ganz anderes Bild, wenn sie sezerniert oder einige Zeit sezerniert hat, als in der Ruhe.

Die Drüsenzellen ändern sich fortwährend. Man wird daher einzelne Stadien herauszugreifen, besonders zu untersuchen, z. B. für Magen im 1., 2. und 3. Verdauungsstadium (siehe physiologische Handbücher), und die verschiedenen Bilder vergleichend zu studieren haben.

1152. Geeignetes Material verschafft man sich, indem man **Tiere** zunächst **hungern** läßt, dann füttert und nach bestimmten Zeiten tötet. Hierzu eignen sich am besten Hunde. Kaninchen oder Mäuse mit leerem Magen zu bekommen, ist schwieriger. Frösche kann man künstlich vermittelst eines kleinen Glastrichters, z. B. mit defibriniertem Blut, füttern.

Die verschiedenen Stadien kann man auch erzeugen, indem man bestimmte Reize einwirken läßt, z. B. **Nervenreizung** und gewisse Gifte.

1153. Von großer praktischer Bedeutung für die histologische Untersuchung sind in erster Linie **Pilokarpin** und **Atropin,** da bei Atropin-Intoxikation die Sekretion unterdrückt, bei Pilokarpin befördert wird; auf diese Weise bekommt man geladene und erschöpfte Drüsenzellen. Die beiden Gifte werden in folgenden Dosen beim Kaninchen pro Kilo Tier angewendet: Pilokarp. hydrochlor. 1 ccm einer 5%igen Lösung; Atropin. sulf. 1 ccm einer 0,5%igen Lösung.

1154. An geeigneten Objekten können Drüsen auch lebend untersucht werden; z. B. Schleimdrüsen in der Nickhaut des Frosches.

1155. Solger empfiehlt Gefrierschnitte frischer Drüsen ohne Zusatzflüssigkeit zu untersuchen; Austrocknung ist durch Umrandung zu verhüten. Die dabei sichtbaren Sekretgranula der Eiweißdrüsenzellen lassen sich durch 3tägige Formalinfixierung, durch Sublimat oder die Altmannsche Flüssigkeit konservieren.

1156. Zur Fixierung kleiner Drüsenstücke eignet sich Flemmingsche Lösung, ferner die Methoden zur Darstellung der Plastosomen.

1157. Sehr gute Resultate gibt auch die Chromosmiumhämatoxylin-Methode O. Schultzes (vgl. §371).

1158. Besonders bei Schleimdrüsenzellen tritt aber während oder hauptsächlich nach der Fixierung beim Auswaschen sehr leicht eine Quellung und Lösung der Schleimkugeln ein. Daher sind nach Metzner und nach Arima (18) Sublimat und die Hellysche Flüssigkeit zur Fixierung der Schleim- und Eiweißgranula ungeeignet.

1159. Metzner bringt zur Vermeidung der Quellung kleinste Stückchen für 24 Stunden in 3 ccm einer 5%igen **Osmiumsäure**lösung (bereitet mit einer 2—3%igen Kochsalzlösung) + 1 ccm einer kalt gesättigten wässerigen **Kaliumbichromat**lösung. Nach 24 Stunden wäscht man 2—4 Stunden in 2%iger Natriumchloridlösung aus (Wasser würde Quellung der Schleimgranula veranlassen). Dann Übertragen in 90%igen Alkohol, der so oft gewechselt wird, bis er mit Silbernitrat keinen Niederschlag mehr gibt usw. Die ganze Alkoholbehandlung soll höchstens 5 Stunden dauern, da sonst die Stücke zu hart werden.

1160. Bei einer zweiten Methode fixiert Metzner in: 7 ccm 5%iger **Osmiumsäure** (mit 1,5%iger Kochsalzlösung bereitet) + 1 ccm kalt gesättigte wässerige **Kalium-**

brichromatlösung. Zu 8 ccm der Mischung setzt man 3—4 Tropfen rauchender **Salpetersäure.** Nach 15—20 Minuten bringt man die Stückchen noch für 24 Stunden in die gleiche Lösung ohne Säurezusatz. Dann wässern in fließendem Wasser, dest. Wasser, dann Alkohol usw. (auch zur Darstellung von Kernstrukturen, elastischen Fasern u. a. geeignet). Gefärbt wird mit Säurefuchsin nach Altmann (vgl. § 555). Zur Färbung der Schleimzellengranula eignet sich ganz besonders die in § 400 angegebene Methode Metzners.

1161. Nach Schaffer werden die Prämuzingranula durch 1 Teil Formol + 2 Teile 90%igen Alkohol gut fixiert. Vgl. auch § 1138 und § 1260.

1162. Zur Färbung der **Giannuzischen Halbmonde** empfiehlt sich nach Fixierung in abs. Alkohol, Sublimat, Hellyscher Flüssigkeit u. a. besonders die Methode von Dominici (s. § 440) oder von Pappenheim (panoptisch s. § 446). Sehr gute Resultate gibt auch die Chromosmium Hämatoxylin-Methode O. Schultzes (vgl. § 372).

1163. Die **Sekretkapillaren** der Drüsenzellen, sowie die größeren Ausführungswege stellt man nach der raschen Golgimethode (§ 966) dar.

1164. Die Zellen der **Schaltstücke** v. Ebners färben sich mit Karmin und mit Hämatoxylin intensiver als die übrigen der Drüse.

1165. Die Strichelung der basalen Teile der Epithelien der **Speichelröhren** in Speicheldrüsen sieht man am besten an mit Osmiumsäure und mit Osmiumsäuregemischen behandelten ungefärbt in Glyzerin eingeschlossenen Präparaten, in Kanadabalsam auch an gefärbten Präparaten weniger deutlich. Das gestrichelte Epithel der Speichelröhren färbt sich mit Hämatoxylin-Kongorot (§ 1128) rotbraun; noch schärfer tritt es bei Anwendung der Plastosomen-Methoden hervor.

1166. An der Mehrzahl der Speicheldrüsen (nicht an der Parotis des Kaninchens oder Sublingualis vom Hund z. B.) lassen sich durch Schütteln (um den Zutritt der Luft zu begünstigen) kleinere Stücke derselben mit Pyrogallussäure, die Speichelröhren dunkelbraun färben (Kalkreaktion); die Farbe hält sich in Alkohol (Merkel, 83).

Die Untersuchung des Pankreas.

1167. Das **Pankreas** verändert sich nach dem Tode außerordentlich rasch, weshalb die Fixierung für feinere

Untersuchungen nur an lebensfrischem Material vorgenommen werden sollte. Ein sehr geeignetes Objekt ist das Pankreas von Amphibien, da hier die Sekretgranula verhältnismäßig groß sind. Säugetiere lasse man vor der Fixierung hungern.

1168. Zur Fixierung eignet sich für Übersichtsbilder u. a. die Heldsche, Zenkersche, Tellyesnickysche und Flemmingsche Flüssigkeit.

1169. Zur **Darstellung der Sekretkörnchen** färbt man derart fixierte Präparate 15—20 Minuten in **Hämalaun,** wäscht aus, differenziert in Salzsäure-Alkohol, bis nur mehr das Chromatin gefärbt ist und wäscht wieder gut aus. Dann färbt man nach Launoy 24 Stunden in **Magentarot** (konz. Lösung in 5%igem Karbolwasser), wäscht in Wasser, färbt ganz kurz in einer 0,1%igen alkoholischen (70%) **Lichtgrünlösung,** differenziert in Salzsäure-Alkohol (1 Tr. auf 100 ccm abs. Alkohol) und bringt durch abs. Alkohol und Xylol in Balsam. Resultat: Chromatin blau. Prozymogen-Körnchen grün. Zymogen-Körnchen rot. Basalfilamente blau, Nukleolen blau mit rotem Zentrum.

1170. Auch mittels der Pasinischen Färbung (s. § 786) lassen sich die Zymogengranula sehr schön darstellen.

1171. Sehr gut bleiben die bei Anwendung anderer Methoden leicht quellenden reifen Sekretgranula bei Gebrauch der Metznerschen Methoden erhalten (Fixierung nach § 1159, Färbung nach § 400).

1172. Zur Darstellung der **Plastosomen** benützt man die in § 534—556 angegebenen Methoden. Mislawsky (13) empfiehlt dafür besonders Fixierung in 3%iger Kaliumbichromatlösung 20 + Formol 20 + 1%ige Osmiumsäurelösung 5. Nach 48 Stunden für 7—8 Tage in 3%iges Kaliumbichromat, wässern usw. An Stelle der in § 548 angegebenen Bleichmethoden behandelt M. die Schnitte vor der Färbung mit 10%iger Perhydrollösung.

1173. Die **Langerhansschen Zellinseln** treten am besten bei Färbung mit Methylgrün-Pyronin (nach § 434) hervor. (25 Minuten bei 37°, dann differenzieren in 70%igem Alkohol.) Koch (13) fixiert dazu in abs. Alkohol, Jaffé und Löwenfeld (12 und 14) mit besserem Erfolg in 2 Teilen Müllerscher Flüssigkeit + 1 Teil 10%igen Formols. Auch die Färbung nach May-Giemsa (§ 446) gibt sehr klare Bilder.

1174. Zur Darstellung von **Fettgewebsnekrosen** im Pankreas fixiert Benda 24 Stunden bei 37° in der Weigertschen

Kupferchromalaunessigsäurebeize (s. § 994,5) mit Zusatz von 10% Formol. Gefrierschnitte davon färbt man mit Sudan III und Hämalaun. Resultat: Nekrotisches Fett grün, normales Fett orangerot, Kerne blau.

24. Kapitel. **Untersuchung der Leber.**

1175. Bei der Wahl des Materials für **Übersichtsbilder** wähle man zunächst eine Schweinsleber, deren Läppchen durch reichlich entwickeltes interlobuläres Bindegewebe voneinander gut getrennt sind. Beim Menschen, wie den meisten anderen Tieren sind die einzelnen Läppchen dagegen mehr oder weniger weitgehend verschmolzen und das interlobuläre Bindegewebe dementsprechend nur spärlich entwickelt. Noch schwächer ist meist in der embryonalen Leber die Gliederung in Läppchen ausgeprägt. Dagegen trifft man hier zahlreiche Blutbildungsherde.

1176. Die **Blutbildungsherde** sind nach Mollier (09) beim menschlichen Embryo am stärksten im 5. Schwangerschaftsmonat ausgebildet. Haff (14) findet beim Hühnchen zwei Perioden, die erste vom 7. bis 9. Bebrütungstag, die zweite vom 11. bis gegen Ende der embryonalen Epoche (Höhepunkt 14. Tag).

1177. **Leberzellen** und **Leberzellbalken** isoliert man nach Heidenhain (03), indem man die frische Schnittfläche einer nicht verfetteten Leber mit einem Skalpell schabt, das Geschabte zum Teil frisch untersucht, zum Teil mit $^1/_3$ Alkohol 24 Stunden behandelt und auf der Zentrifuge isoliert, § 663. Kaninchen haben, nach Levi, sehr große, 24 μ messende Leberzellen.

1178. Die feinere Zellstruktur der Leberdrüsenzellen kann je nach der Fütterung außerordentlich verschiedenes Aussehen aufweisen (vgl. dazu bes. W. Berg 12).

1179. Die Wahl der **Fixierungsmethode** richtet sich nach dem dabei verfolgten Zweck. Für Übersichtsbilder eignen sich beinahe alle für allgemeine Zwecke gebräuchlichen Fixierungsflüssigkeiten, besonders Sublimateisessig, Formol und das Heidsche Gemisch. Für Fettnachweis fixiere man in Formol und verfahre nach § 566ff., Plastosomen stelle man nach § 534—556, das Glykogen nach § 594ff., Kernstrukturen nach § 519 dar.

1180. Die Blutgefäße der Leber werden meist von der Pfortader aus injiziert (s. § 1073). Zuvor unterbindet man die Vena cava inf. Doch ist die Injektion auch von der Art. oder ven. hepatica aus möglich.

Darstellung der Gallenwege.

A. Durch Injektion.

1181. Berlinerblauinjektion. Man injiziert dazu am besten eine konz. Lösung von wasserlöslichem Berlinerblau vom ductus hepaticus oder auch choledochus aus. Im letzteren Fall füllt sich zuerst die Gallenblase mit Farbmasse und erst dann durch den duct. hepat. die Gallengänge. Bei dieser Art der Darstellung hat man oft mit Extravasaten zu kämpfen; zudem gelingt sie meist nur an beschränkten, gewöhnlich peripher gelegenen Bezirken der Leberläppchen. Bei kleineren Tieren injiziert Ranvier die Gallenkapillaren von der Gallenblase aus.

1182. Verschiedene Tiere (z. B. Maus, Ratte, Pferd) besitzen keine Gallenblase.

1183. Besser sind die Methoden der **physiologischen Selbstinjektion** (Chrzonszczewsky, 64 und 66). Man injiziert in die vena jugularis ext. eine gesättigte wässerige Lösung von Indigokarmin (Hund auf einmal je 50 ccm, Katze 30 ccm, ausgewachsenes Kaninchen 20 ccm) dreimal im Laufe von 1½ Stunden. Nach Verlauf dieser Zeit tötet man das Tier und fixiert kleinere Leberstücke mit abs. Alkohol, Chlorkalium, oder indem man die Blutgefäße der Tiere mit einer gesättigten wässerigen Chlorkaliumlösung von der Pfortader aus ausspritzt. Man kann auch nachträglich die Gefäße mit Karminleim injizieren und mit Alkohol härten; man bekommt dann mit Indigokarmin natürlich injizierte Gallenkapillaren und mit Karminleim injizierte Blutgefäße nebeneinander.

Schneidet man die so fixierte Leber, so findet man die Gallenkapillaren, falls die Zeit des Abtötens gut getroffen wurde, gefüllt mit Indigokarmin, welcher aus den Blut- und Lymphbahnen durch die Leberzellen in diese ausgeschieden worden ist.

1184. Beim Frosch läßt sich das Ganze noch einfacher machen: Man injiziert in den Lymphsack des Frosches etwa 2 ccm einer wässerigen Indigokarminlösung; nach ein paar Stunden wird das Tier getötet und die Leber, wie eben angegeben, fixiert und weiter behandelt.

1185. Bei abgeblaßten Injektionspräparaten läßt sich durch Einwirkung von Nelkenöl die Farbe wieder auffrischen.

B. Darstellung durch Imprägnation.

1186. Darstellung der Gallenkapillaren mit dichromsaurem Silber. (Böhm A., siehe Kupffer, 89.) Frische

Leberstücke, die nicht mehr wie 1 ccm groß sein dürfen, werden auf 3 mal 24 Stunden in folgende von Ramon y Cajal für andere Zwecke angegebene Flüssigkeit übertragen: 3%ige Lösung von Kalium bichromicum 4 Teile, 1%ige Osmiumsäure-Lösung 1 Teil. Hieraus auf 24—48 Stunden in eine ¾%ige wässerige Silbernitratlösung. Die Stücke werden alsdann mit destilliertem Wasser abgespült, in Alkohol kurz nachgehärtet und geschnitten. Die Gallenkapillaren sind schwarzbraun imprägniert.

1187. Braus (96) imprägniert die Gallenkapillaren mit Argentum nitricum nach Anwendung einer Mischung von ⅓%iger Chromsäurelösung und Formol oder einem Gemisch von Müllerscher Flüssigkeit und Formol (75 Volumprozent Chromlösung und 25 Volumprozent 40%iger wässeriger Formaldehydlösung, besonders für fettreiche Lebern). Oft kann ein Erfolg durch wiederholtes Überführen der Stückchen von Chromlösung in Silber noch nach Wochen erzielt werden. Auch die Methode von Kopsch (§ 969) ist gut.

C. Darstellung durch Färbung.

1188. Eppinger (02) beizt formolfixierte Organstücke 10 Tage (bei 37° nur 5 Tage) in Weigerts Neurogliabeize, (vgl. § 994,5), wäscht aus und bettet in Zelloidin ein. Die Schnitte kommen ½ bis (bei frischen Lösungen) 24 Stunden in 1%ige wässerige Hämatoxylinlösung 5 Minuten, in gesättigter wässeriger Kupferazetetlösung, werden über Nacht in dest. Wasser gewaschen und in der auf das 5—10fache mit Wasser verdünnten Weigertschen Boraxferizyankaliumlösung (s. § 994,7) differenziert, bis die Schnitte grau bis braungelb gefärbt sind. Nach gründlichem Auswaschen in dest. Wasser Einlegen 3—5 Minuten in gesättigter wässeriger Lithiumkarbonatlösung, nochmals Auswaschen in fließendem Wasser, Entwässern usw.

1189. Auch mit Eisenhämatoxylin (s. § 358), sowie dem Triacidgemisch (s. § 438) gelingt oft die Färbung der Kapillaren (vgl. darüber R. Krause 93, E. Müller 95).

1190. Der Inhalt der Gallenkapillaren wird durch Fixierung in Formol für Wasser und Alkohol schwer löslich gemacht. Vergiftet man das Versuchstier mit **Toluylendiamin** und fixiert man hierauf in Formol, dann sind die mit Galle stark gefüllten Kapillaren auch bei gewöhnlicher Hämalaunfärbung gut sichtbar.

1191. Die Darstellung des **interlobulären Bindegewebes (Gitterfasern)** gelingt am besten nach der Methode von Bielschowsky (s. § 802), ferner lassen sie sich auch nach

§ 798 (Hueter), § 811 (Jodjodkali-Goldchlorid) oder nach § 808 (Achúcarro) gut darstellen.

1192. Timofejew (09) färbt die Gitterfasern der Leber an frischen Gefrierschnitten mit Methylenblau rekt. Ehrlich (Grübler) 1 g auf 2—4000 ccm physiol. Kochsalzlösung 24 Stunden, spült ab und bringt ½—1—24 Stunden in 0,1 g Ammoniumpikrat in 800—1200 ccm physiol. Kochsalzlösung und schließt in konz. wässeriger Ammoniumpikratlösung 35 ccm, Glyzerin 50 ccm, Aq. dest. 50 ccm ein. Nachfärbung in Cajals Indigokarmin-Pikrinsäure (s. § 425) möglich.

1193. Um die **Sternzellen der Leber** zur Darstellung zu bringen, verreibt man nach v. Kupffer (99) etwa 0,5 g schwarze Tusche in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung und spritzt die Suspension einem Kaninchen intravenös ein (vena jugularis oder einfacher Ohrvene). Nach 24 bis 36 Stunden tötet man das Tier und fixiert die Leber beliebig. An Schnittenpräparaten findet man dann die Sternzellen stark mit Tuschekörnchen gefüllt.

1194. Ähnliches erzielt man durch Injektion der Tuschesuspension in den Lymphsack eines Frosches oder in die Bauchhöhle einer Maus.

1195. Ribbert spritzt eine möglichst konz. **Lithionkarminlösung** intravenös ein (einem ausgewachsenen Kaninchen z. B. in 9 Tagen 27 ccm). Auch mit **Trypanblau** oder **Pyrrolblau** gelingt die Darstellung (vgl. § 465).

1196. Tschaschin (13) injiziert in zweitägigen Zwischenräumen 4—5 mal 4—5 ccm einer 1%igen **Kollargollösung** (intravenös), Fixierung in 10%igem Formol, Gefrierschnitte oder Paraffineinbettung.

1197. Zur Darstellung der **Nerven** in der Leber bringt Berkley (93) ½—1 mm breite Streifen des frischen Organs in zur Hälfte mit heißem Wasser verdünnte gesättigte Lösung von Pikrinsäure in Wasser auf 15—30 Minuten und dann in eine Lösung von Kalium bichromicum und 2%iger Osmiumsäure (100 : 16) im Dunkeln bei 25°C auf 48 Stunden. (Diese Lösung muß vor dem Gebrauche einige Tage in der Sonne stehen.) Die Objekte werden dann mit einer ¼—¾%igen wässerigen Silbernitratlösung 5—6 Tage behandelt, gewaschen, geschnitten (rasche Zelloidindurchtränkung nicht ausgeschlossen). Bergamottöl, Xylol-Kanadabalsam. — Wolff (02) färbte die Nerven der Froschleber mit Methylenblau.

25. Kapitel. **Die Untersuchung der Atmungsorgane.**

1198. Kehlkopf und **Rachen** kleinerer Tiere, die nicht zu alt sein sollen, werden am besten in Flemmingscher

Flüssigkeit fixiert. Aber auch andere Fixierungsmittel, wie Sublimat, Formol, Heldsche, Zenkersche oder Bouinsche Flüssigkeit geben befriedigende Bilder.

1199. Bei älteren Tieren sind die Knorpelteile häufig verkalkt und daher ohne Entkalkung schwer zu schneiden. Bei solchen präpariere man die Schleimhaut nach der Fixierung sorgfältig ab, durchtränke und schneide sie allein. Oder man durchtränke zunächst den Kehlkopf ganz mit (weichem) Paraffin und entferne vor dem Schneiden mit einem Messer die harten Knorpelteile. Das letztere Verfahren ist schonender. Größere Kehlköpfe schneide man (wenn im ganzen zu schneiden) in Zelloidin.

1200. Die nach Flemming fixierten Objekte färbt man nach § 358 (Eisenhämatoxylin) oder § 528 (Safranin-Gentianaviolett).

1201. Beobachtung des Epithels von der Fläche, s. § 675, gibt Aufschluß über die Verteilung des Flimmer- und Plasterepithels.

1202. Selbstverständlich kann das Flimmer- und Pflaster-Epithel der Respirationswege im frischen Zustande sowohl, als auch mazeriert (Vorzügliches leistet Ranvierscher $^1/_3$ Alkohol) beobachtet werden (s. § 658).

1203. Für die Darstellung der **Drüsen** gilt das in § 1151 ff. Gesagte.

1204. Die Wahl des Materials für die Untersuchung der **Lunge** muß mit besonderer Sorgfalt getroffen werden, da man sehr oft pathologische Verhältnisse antrifft.

1205. Um den Zusammenhang kleinster Bronchien mit den Alveolargängen und dieser mit den Alveolen zu sehen, fertige man Schnitte senkrecht auf die Oberfläche der Lunge an.

1206. Zur Darstellung des **respiratorischen Epithels** injiziert man die Lunge mit Silbernitratlösung. (F. E. Schulze 71 und Kölliker 81):

Man spritze eine 0,05% ige Silbernitratlösung von der Trachea oder einem großen Bronchus aus in die Lunge ein, die man, ohne sie zu verletzen, dem Tiere eben entnommen hat. Ist so die Lunge mäßig gefüllt, so binde man die Trachea an der Spitze der Kanüle ab, um das Zurückfließen der injizierten Flüssigkeit zu verhindern, und lege dann die so eingespritzte Lunge in eine $^1/_2$%ige Lösung desselben Salzes. Nach einer Stunde etwa wird die Lunge in Stücke zerschnitten und in Spiritus von etwa 80% aufbewahrt. Man kann auch die ganze Lunge in

Spiritus einlegen und erst später zerschneiden. Die mit Paraffin durchtränkten Lungenstückchen werden geschnitten (das Aufkleben der Schnitte mit Eiweiß ist zu vermeiden, wegen des späteren Nachdunkelns desselben). Solche dem Lichte ausgesetzte Schnitte zeigen nach einiger Zeit Silberlinien sowohl der Alveolenepithelien als der Alveolargänge. Kernfärbung ist zulässig (Hämatoxylin oder Safranin).

1207. Kopsch 06 gibt folgendes an: Ein kleines Tier wird geköpft, dessen Lunge herausgenommen und mit einer $^1/_4$%igen Silbernitratlösung von der Trachea aus injiziert, in einer Lösung derselben Konzentration im Dunkeln gehalten und dann in dünne Formollösung, 3—4 ccm Formol auf 100 ccm Wasser, übertragen. In diese diffundiert die noch nicht verbrauchte Silberlösung und wird von Formol reduziert; Formol wird trüb und nach einer Stunde erneuert. In der erneuerten Lösung bleibt die Lunge 12 bis 24 Stunden liegen. Gefrierschnitte läßt man im Wasser im Lichte stehen, um endgültige Reduktion des Silberalbuminats zu erzielen. Die Schnitte werden entwässert usw.

1208. Elastische Fasern der Lungenalveolen untersucht man an frischen, mit Kalilauge behandelten Präparaten (s. § 769); oder auch an mit $^1/_3$ Alkohol mazerierten Lungenalveolen, die nachträglich auf dem Objektträger mit Pikrokarmin gefärbt werden können.

1209. An Schnitten färbe man die elastischen Fasern (Kehlkopf, Trachea, Bronchen, Lunge) mit Resorzinfuchsin (s. § 814 oder Orcein s. § 818).

1210. Orsós injiziert die Lunge mit alkoholischer Formalinlösung: 8%ige Formollösung 70 Teile und 30 Teile 96%igen Alkohols. Nach 2—3tägiger Fixierung kommt Lunge in 96%igen Alkohol, welcher oft gewechselt wird, nicht allzu dicke Scheiben der Lunge werden 3 Stunden in Weigertscher Elastinfärbung gefärbt. Nachdem ½ bis 1 Stunde mit salzsaurem Alkohol und nachher ½—1 Stunde werden die Stücke nach Waschung und Entwässerung mit Paraffin geschnitten.

Auch andere Fixierungsflüssigkeiten injiziert man mit Vorteil von der Luftröhre aus.

1211. Die **Blutgefäße der Lunge** lassen sich verhältnismäßig leicht mit Karmin- oder Berlinerblau-Leim (siehe § 1084ff.) injizieren, oder man kann bei Amphibien z. B. die mit Blut gefüllten Blutgefäße in vivo beobachten.

26. Kapitel. **Untersuchung der Niere und der Harnwege.**

1212. Über die **Leichenveränderungen** in der **Nierensubstanz** der Ratte haben Policard und Garnier wertvolle Beobachtungen veröffentlicht. Die Malpighischen Körperchen verändern sich erst nach 2—4 Stunden nach dem Tode, indem die Epithelien des Glomerulus und der Ampulle trüb werden. Schon nach 20—30 Minuten werden die Heidenhainschen Basalstäbchen grobgranuliert, das Protoplasma der Zellen der gewundenen Kanälchen wird basophil und ihr Kern acidophil. Der Bürstenbesatz, entgegen der Behauptung vieler Autoren, ist nur wenig empfindlich, er schwindet sehr spät, und 4 Stunden nach dem Tode ist er deutlicher als zuvor zu sehen. Nach Ablauf der ersten Viertelstunde erscheinen im Lumen der Kanälchen hyaline Kugeln, zuerst in den gewundenen Kanälchen, später distal. Henlesche Schleifen verändern sich weniger rasch usw. Die gewundenen Kanäle wären demnach am empfindlichsten. Man kann sie nur mit Osmiumsäuredämpfen tadellos fixieren.

1213. Zur Isolierung der Harnkanälchen legt man etwa 0,5 cm dicke Scheibchen einer nicht zu frischen Niere (ca. 24 Stunden nach dem Tode) für 15—20 Stunden in reine Salzsäure (spezifisches Gewicht 1,12). Huber 11 verdünnt 3 Teile der Salzsäure mit 1 Teil Wasser und mazeriert 3—4 Stunden. Hierauf wäscht man in dest. Wasser aus, färbt 1—2 Tage in Hämalaun, zupft auf dem Objektträger und schließt in verdünntem Glyzerin oder in Glyzeringelatine ein. Der Glyzerinzusatz muß sehr vorsichtig erfolgen, damit die isolierten Kanälchen durch Strömungen nicht verwickelt oder zerrissen werden.

1214. Böhm und Oppel empfehlen zum gleichen Zweck, kleine frische Nierenstückchen in starke, bis auf 40% verdünnte, rauchende Salpetersäure auf 2—4 Stunden einzulegen, worauf man mit dest. Wasser gut auswäscht. Unter Umständen kann man dann schon durch einfaches Schütteln lange Abschnitte isolieren. Nach gründlichem Auswaschen kann man durch Zusatz von einigen Tropfen Säurefuchsin zum dest. Wasser die Kanälchen anfärben. Einschluß wie in § 1213.

Ein besonders günstiges Objekt für die Isolierung ist die Niere der Schildkröte, wie die der Maus, bei denen häufig die Isolierung sehr langer Abschnitte gelingt.

1215. Eine Methode, die rasch zum Ziele führt, die Zellen aber unkenntlich macht (zerstört), ist die Anwendung

der konzentrierten Kalilauge. Kleinere Stücke einer frischen Niere werden auf 1—1½ Stunden in konz. Kalilauge gelegt. Die so behandelten Stücke werden in dieser Flüssigkeit zerzupft und untersucht; man hüte sich, Wasser hinzuzusetzen.

1216. Um **Epithelien isoliert** zu bekommen, empfiehlt sich die Mazerierung kleiner Stücke in Ranvierschem Alkohol (s. § 658) oder nach R. Heidenhain (80) in 5%iger Lösung von neutralem chromsaurem Ammoniak, in welchem besonders klar die Stäbchenstrukturen der Zellen bestimmter Abschnitte der Harnkanälchen zum Vorschein kommen sollen.

1217. Zur Herstellung von Übersichtsbildern eignen sich alle gebräuchlichen Fixierungsmittel, wie Formol, Zenkersche-, Heldsche- oder Bouinsche Flüssigkeit usw. Besonders zu empfehlen ist auch die Fixierung durch Injektion nach § 101 mit den dort angegebenen Flüssigkeiten.

Für feinere zytologische Untersuchung benütze man die in Kapitel 13 angegebenen einschlägigen Methoden.

1218. Die **Zellgrenzen** der Zellen der Harnkanälchen lassen sich nach Böhm und Davidoff 95 sehr gut mittels der Silbermethode von Golgi (§ 966) oder von Cox (§ 970) darstellen.

1219. Um die feinen Strukturen der **Membrana propria** sichtbar zu machen, bringt Frisch (15) Gefrierschnitte von Zenker fixierten Nieren auf 3 Stunden im Dunkeln in ein Gemisch einer 2%igen Kaliumbichromatlösung und 96%igen Alkohols (gleiche Teile). Hierauf werden sie 12 Stunden in einer 0,5%igen Hämatoxylinlösung (in 70%igem Alkohol) gefärbt, mit 70%igem Alkohol ausgewaschen, bis keine braunen Wolken mehr abgehen und durch 96%igen Alkohol und Öl in Damarbalsam gebracht.

1220. Die »Strichelung der Epithelien« tritt am besten und lebensähnlichsten bei Anwendung der Plastosomenmethoden (s. § 534—556) hervor, während bei der früher üblichen Fixierungsweise in sauren Flüssigkeiten, wie z. B. in Carnoyscher Flüssigkeit, nur Rudimente der eigentlichen Struktur erhalten bleiben.

1221. Das **Bindegewebe** der Niere stellt man besten nach Bielschowsky-Maresch (§ 802) oder Achúcarro (§ 808) dar.

1222. Über das Verhalten der Nierenzellen gegenüber vital injizierten Farbstoffen (vgl. insbesondere die Arbeiten Suzuks, v. Möllendorffs (15) und Schulemanns.

1223. Zum Nachweis des **Natriumchlorids** legt Leschke (14) dünne Schnitte einer frisch entnommenen Niere in

eine salpetersaure Silbernitratlösung und reduziert den Silberchloridniederschlag mit Hydrochinon. **Harnstoff** fällt man mit einer salpetersauren Lösung von Quecksilberoxydnitrat, bettet in Paraffin ein und führt den Niederschlag durch Schwefelwasserstoffwasser in Quecksilbersulfid (braunschwarz) über. Die **Harnsäure** und die **Purinkörper** werden durch ammoniakalische Silbernitratlösung gefällt und nach Auswaschen der Silberlösung mit dest. Wasser durch Hydrochinon reduziert. Die Chloride und Phosphate bleiben in Lösung. Zur Darstellung der **Phosphate** legt man dünne Organscheiben in verdünnte Urannitratlösung und führt den weißgelben Niederschlag von Uranphosphat durch Behandlung der Paraffinschnitte mit einer salzsauren Lösung von Ferrozyannatrium in rotbraunes Uraniferrozyannatrium über.

1224. Die Fixation und Färbung des Ureters und der Harnblase erfolgt mit den allgemein üblichen Methoden. Die Harnblase bettet man wegen der schwer schneidbaren Muskulatur am besten in Zelloidin ein. Man versäume nicht, die Veränderungen zu studieren, die das Aussehen des Übergangsepithels bei Dehnung der Organe erleidet. Man injiziert dazu Ureter bzw. Harnblase mit der Fixierungsflüssigkeit bis zu praller Spannung und bindet dann ab. Das Epithel plattet sich dabei sehr stark ab (London 81, Kann 89). Ähnliches ist auch bei anderen Röhren, z. B. beim Darmrohr, zu beobachten (vgl. § 1133).

27. Kapitel. Die Untersuchung der Geschlechtsorgane.

1225. Für das Studium der Keimdrüsen hat man sowohl das Alter, wie den jeweiligen Funktionszustand genau zu berücksichtigen. Sehr wichtig ist es ferner für feinere Untersuchungen, nur Material von gesunden und womöglich frisch gefangenen Tieren zu verwenden, da gerade die Geschlechtszellen durch ungünstige und anomale äußere Bedingungen außerordentlich leicht beeinflußt werden.

1. Weibliche Geschlechtsorgane.

1226. Günstige Objekte für die Untersuchung am **frischen Präparat** liefern zahlreiche Wirbellose, wie besonders Seeigel (Echinus microtubulatus) und Seesterne (Asterias glacialis oder A. rubens, ersterer im Mittelmeer, letzterer in der Nordsee). Für die Untersuchung läßt man sich, da sich meist nicht alle Tiere im geeigneten Zustande

befinden, eine größere Anzahl von der nächstliegenden zoologischen Meeresstation schicken.

Näheres über die Art der Präparation bei P. Buchner (15) und bei Haecker, wo man auch zahlreiche andere Angaben über die Untersuchung von Geschlechtszellen der Wirbellosen findet.

1227. Auch die **unreifen Eier niederer Wirbeltiere,** wie von Fischen, Amphibien, auch von Reptilien und Vögeln kann man zur Herstellung frischer Präparate benutzen. Man schneide sich dazu die unreifen, hell ausschauenden (gewöhnlich dorsal liegenden) Teile des Eierstockes mit einer Schere heraus, breite sie in einer indifferenten Flüssigkeit auf einem Objektträger aus und untersuche mit schwacher Vergrößerung. Für die Beobachtung mit stärkerer Vergrößerung muß man die kleineren Eier isolieren und durch ein mit Schutzleisten oder Wachsfüßchen versehenes Deckglas vor Druck schützen.

1228. Um die viel kleineren **Eier der Säugetiere** im unreifen Zustand zu isolieren, führt man mit einem scharfen Rasiermesser einen Schnitt durch ein frisch entnommenes Ovar eines nicht zu alten Tieres (z. B. einer Ziege oder einer Sau). Hierauf benetzt man die Schnittfläche etwas mit einer indifferenten Flüssigkeit (vgl. § 47 f.) und schabt sie sorgfältig mit einem Skalpell oder mit der Rasiermesserklinge selbst. Durch den sanften Druck lösen sich aus vielen Follikeln die Eizellen heraus in die Flüssigkeit, die man tropfenweise auf den Objektträger bringt und zunächst bei mittlerer Vergrößerung untersucht. Zur Untersuchung mit starker Vergrößerung muß man ein mit Wachsfüßchen versehenes Deckglas auflegen.

1229. Die isolierten Eizellen kann man vorsichtig in Flemmingscher Flüssigkeit, Sublimat-Eisessig od. dgl. fixieren. Führt man sie hierauf in bekannter Weise in Glyzerin oder Kanadabalsam über, so muß man bei Übertragen in die verschiedenen Flüssigkeiten zur Vermeidung von Schrumpfungen, mit ganz schwachen Konzentrationen beginnen. Um reife Eier von Säugetieren zu bekommen, untersucht man die Ovarien ausgewachsener Tiere unmittelbar vor oder während der Brunstzeit. Man sucht sich dazu am unverletzten Ovar die oberflächlich gelegenen, durchscheinenden, bläschenförmigen, reifen Follikel aus, sticht diese mit einer spitzen Nadel an und fängt die herausspritzende Follikelflüssigkeit in einem Uhrschälchen auf. Durch die starke Druckentlastung wird dabei gewöhnlich

das Ei mit der Corona radiata losgelöst und herausgeschleudert. (O. Schultze 97.) Man untersucht die Flüssigkeit mit der Lupe, überträgt das Ei mit einer Pipette auf einen Objektträger usw. wie in § 1227.

Wendet man dabei keine Wachsfüßchen an, so drückt das Deckgläschen auf die immerhin ziemlich voluminösen Gebilde: die Zona pellucida zeigt dann alsbald einen in der Sehebene liegenden, strichförmigen Riß (künstliche Mikropyle), der durch den Druck bedingt ist.

1230. Die reifen Eier unserer einheimischen Fische, Amphibien und Reptilien, sind wegen ihrer Größe und ihres Dottergehaltes zu undurchsichtig, als daß sie eine Untersuchung bei durchfallendem Licht gestatten würden. Hier läßt sich nur durch Anfertigung von Schnittpräparaten nähere Einsicht gewinnen. Bei auffallendem Licht lassen sich unter der Lupe oder dem binokulösem Mikroskop einzelne Details, wie Polkörperchen, Eihülle u. dgl. ganz gut erkennen.

Untersuchung des fixierten Präparates.

1231. Um **Übersichtsbilder** zu erlangen, wende man die in § 515 u. 519 angegebenen Methoden an. Besonders wertvoll ist, namentlich bei kleineren Ovarien, die Flemmingsche Flüssigkeit, die neben anderen Vorzügen auch den hat, daß sie die Struktur des Eiprotoplasmas, die Zona pellucida u. a. vorzüglich konserviert. Nachteilig ist nur die geringe Tiefenwirkung, weshalb man bei etwas größeren Objekten in dünnen Scheiben oder durch Injektion fixieren muß. Die derart fixierten Präparate färbt man mit Eisenhämatoxylin. (§ 358) oder Safranin (§ 392).

1232. Levi (13) empfiehlt eine etwas modifizierte, Maximow'sche Flüssigkeit (zu 10 ccm der 2,5 Prozent Kaliumbichromat und 5 Prozent Sublimat enthaltenden wässerigen Lösung setze man unmittelbar vor Gebrauch 2 ccm Formol und 2 ccm einer 2%igen Osmiumsäurelösung. Fixierungsdauer 2—3 Tage, hierauf 1 Stunde in fließendes Wasser usw.).

1233. Zur Orientierung benützt man am zweckmäßigsten Ovarien kleiner Tiere, wie Mäuse, Ratten, Fledermäuse, Meerschweinchen etc., da sich dieselben leichter fixieren lassen und ohne Schwierigkeiten zu bekommen sind. Von größeren Tieren eignen sich besonders Katzen, Kaninchen, Schweine, Ziegen u. dgl.

1234. Das **Keimepithel**, das auf dem Schnitt gut sichtbar ist, kann auch von der Fläche durch Versilberung dar-

gestellt werden (siehe § 664). Das Ovarium wird mit Alkohol nachbehandelt, und ein dünner tangentialer Schnitt zeigt die Silberlinien des Keimepithels.

Ganz kleine Ovarien junger Mäuse, Fledermäuse etc. lassen sich nach der Versilberung im ganzen einschließen und die Silberlinien des Keimepithels bei passender Einstellung beobachten.

1235. Zur Darstellung der Plastosomen, des Binnenapparates, des Glykogens, Fettes und der Lipoide wähle man die in den betreffenden Kapiteln angeführten Methoden.

1236. Dotterkerne findet man unter Säugetieren besonders bei Ziegen und Katzen gut ausgebildet. Nach Fixierung in Zenkerscher Flüssigkeit od. dgl. treten sie bei Färbung nach Mallory leuchtend rot hervor. Von Wirbellosen eignen sich nach Haecker besonders Spinnen (Tegenaria). Man fixiere die Ovarien dazu womöglich im Frühjahr.

Über die interstitielle Drüse s. § 1276.

1237. Tuben werden wie Darm behandelt. Da aber die Tube sehr stark und vielfach gewunden ist, so ist es, falls es auf genaue Querschnitte ankommt, notwendig, die Tube vor dem Fixieren zu strecken, indem man zuvor die peritoneale Duplikatur möglichst nahe der Anheftungsstelle der Tube mit einer krummen Schere entfernt, welche Operation bei kleinen Tuben, z. B. von Fledermäusen, der Übung bedarf. Auch Einspritzen der Fixierungsflüssigkeit in die Tube nach Abschneiden der Mesosalpinx vor Übertragen in die Fixierungsflüssigkeit ist anzuraten. Man sieht dabei, daß viele Falten sich ausgleichen. Vgl. ferner § 1482 f.

1238. Der **Uterus** wird gleichfalls wie Darm behandelt. Schlauchförmige Uteri bestimmter Tiere, namentlich junger, ganz kleiner Tiere, Mäuse etc., dann Katzen, Hunde, Schafe, lassen sich mit der Fixierungsflüssigkeit, bevor sie in dieselbe eingelegt werden, ebenfalls ausspritzen, wobei die Tube, wenn dies erwünscht ist, mitbehandelt werden kann. Die Weiterbehandlung ist die gewöhnliche. Vgl. ferner § 1487.

1239. Moll (10) fixiert Uteri in Alkohol abs. 100 ccm, Formol 25 ccm, Eisessig 6 Tropfen.

1240. Um den **menschlichen Uterus in toto** zu fixieren, legt man ihn nach Poso (10) zur Erschlaffung der Muskulatur zunächst eine Stunde in eine von 33° allmählich auf 37° C erwärmte 2%ige Lösung von Kaliumchlorid, dann fixiert man in warmem (37° C) angesäuertem Alkohol von 50 auf 70 Prozent ansteigend, wobei man je 300 ccm

in eine rechte und eine linke Vene injiziert und auch die Uterushöhle mit Hilfe einer Glaskanüle mit dem Fixierungsgemisch vorsichtig anfüllt. Einbettung in Paraffin durch Terpentinöl oder Zedernholzöl nach § 214.

Wegen der Härte der Muskulatur ist vielfach Zelloidineinbettung vorzuziehen.

1241. Über das Aussehen der Uterusschleimhaut zu verschiedenen Funktionszuständen (Menstruation usw.) vgl. Adler und Hitschmann. Gelegentlich vorkommende Plattenepithelinseln der Uterusschleimhaut stellt man nach § 675 dar.

1242. Das **Bindegewebe** der weiblichen Geschlechtsorgane, das je nach dem Alter des Individuums sehr starke Unterschiede zeigt, untersucht man mit den Methoden von Bielschowsky-Maresch (§ 802), Mallory (§ 781) oder Achúcarro (§ 808), elastisches G. nach § 814, s. Hörmann.

1243. **Vagina** und **Vestibulum** behandle man wie Ösophagus oder Haut.

2. Die Untersuchung der männlichen Geschlechtsorgane.

1244. Um **Spermien** von niederen Wirbeltieren **in lebendem Zustand** zu beobachten, zerschneidet man den Hoden eines geschlechtsreifen Tieres kurz vor oder zu Beginn der Brunstzeit in einem mit etwas physiologischer Kochsalzlösung gefüllten Schälchen in kleine Stückchen. Einen Tropfen der trüb aussehenden Flüssigkeit untersucht man dann unter dem Deckglas bei schwacher Vergrößerung. Man blendet dabei am besten ziemlich stark ab. Auch bei Dunkelfeldbeleuchtung lassen sich derartige Präparate mit Vorteil untersuchen.

1245. Spermien von Salamandern, Fröschen und Kröten lassen alle bis jetzt beschriebenen Bestandteile (Spitzenstück, Kopf, Mittelstück, Schwanz, ev. undulierende Membran, Randfaden usw.) gut erkennen. Setzt man dem Präparat dest. Wasser zu, so hört die Bewegung bald auf. Schwache alkalische Lösungen wirken dagegen ähnlich wie auf die Flimmerbewegung anreizend.

1246. Bei höheren Wirbeltieren durchschneidet man, um reife Spermien zu gewinnen, am besten den Nebenhoden und vermischt die aus den angeschnittenen Kanälchen hervordringende, milchige Flüssigkeit mit etwas physiologischer Kochsalzlösung oder dgl. Untersucht man den Gewebsaft einer Hodenschnittfläche, so findet man neben reifen Spermien auch zahlreiche unreife Formen.

1247. Die Spermien schwimmen immer gegen den Strom; wenn man Sperma unter das Deckglas bringt und durch ein Stückchen Fließpapier, das man an eine Kante des Deckglases auflegt, eine Strömung erzeugt, so läßt sich das Phänomen (Rheotaxis) leicht beobachten.

1248. Die **fibrilläre Struktur des Rand- und Achsenfadens** läßt sich häufig durch Mazeration deutlich machen. Man versetzt dazu etwas Spermaflüssigkeit mit 0,6—3%iger, wässeriger Kochsalzlösung, bringt einen Tropfen davon auf einen Objektträger unter ein Deckglas und umrandet sogleich mit Wachs, so daß kein Verdunsten eintreten kann. Nach 1—2 Tagen läßt sich dann der fibrilläre Zerfall mit starker Vergrößerung beobachten. Auch durch Fäulnis kann dieses Resultat oft erzielt werden.

1249. Um die isolierten Achsenfäden zu färben, entfernt man nach der Mazeration den Wachsrand, bringt an eine Kante des Deckglases eine 0,5proz. wässerige Gentianaviolettlösung und leitet die Farblösung so lange vorsichtig unter dem Deckglas durch, bis eine hinreichende Färbung erzielt ist. Hierauf saugt man von beiden gegenüberliegenden Kanten her den Überschuß an Flüssigkeit ab, drückt das Deckglas etwas an, umrandet und untersucht.

Ausführliche Angaben über die Mazeration von Spermien findet man in den zahlreichen darauf bezüglichen Arbeiten von Ballowitz.

1250. Zur **Fixierung der Spermien** eignet sich vor allem **Osmiumsäure.** Man bringt 3—5 ccm einer 1%igen Lösung auf den Boden einer gut schließenden Schale und läßt 5—10 Minuten die Dämpfe auf die in hängenden Tropfen befindlichen Spermien einwirken. Hierauf verfertigt man in der in § 692 u. 693 geschilderten Weise Ausstrichpräparate, die man lufttrocknen läßt. Nicht so gut ist es, der spermienhaltigen Flüssigkeit einige Tropfen der Osmiumsäurelösung zuzusetzen. Die mit obiger Methode hergestellten, lufttrockenen Ausstriche können dann mit Safranin, Gentianaviolett, Eisenhämatoxylin u. dgl. gefärbt werden. Zweckmäßig zieht man sie vorher einige Male durch eine Flamme, auch die Bleichung nach § 548 ist oft empfehlenswert.

Zum Unterschied von Blutausstrichen verfertigt man also hier die Ausstriche nicht von unfixiertem, sondern von fixiertem Material. Bei Verwendung von unfixiertem werden die feineren Strukturen meist zerstört.

1251. Gute Erfolge gibt auch die Fixierung in dem Dampfgemisch nach Werzberg (§ 702) mit nachheriger

Färbung nach Giemsa (§ 717), May-Giemsa (§ 720) oder Ehrlich-Biondi (§ 438).

1252. Für **Übersichtspräparate von Hoden** fixiert man zweckmäßig die Hoden kleinerer Tiere mit Formalin, Heldscher oder Bouinscher Flüssigkeit. Da die Samenkanälchen beim Zerschneiden des Hodens hervorquellen und dadurch disloziert werden, so legt man das Präparat zunächst im ganzen ein und zerschneidet es erst nach 1—2 Stunden. Man kann auch unter die Tunica albuginea zur Anhärtung etwas Fixierungsflüssigkeit einspritzen. Am besten aber ist die Fixation durch Injektion von der art. spermat. int. aus.

1253. Für feinere Untersuchungen ist die Flemmingsche Flüssigkeit anzuwenden, hierauf Färbung nach § 528 oder mit Eisenhämatoxylin.

1254. Sehr gute Resultate gibt die **Hermannsche** (93) Flüssigkeit (vgl. § 158). Für Salamander nimmt man nur die Hälfte der in § 158 angegebenen Osmiumsäure. Man lasse die Flüssigkeit auf möglichst kleine Stücke 24 Stunden oder besser länger einwirken, wasche 24 Stunden in fließendem Wasser und bringe durch Alkohol in Paraffin.

Zur Färbung mit **Safranin-Gramscher Farbe** werden dünne Schnitte auf 24—48 Stunden in Anilinwasser-Safranin (1 g Safranin, 10 ccm abs. Alkohol, 90 ccm Anilinwasser, vgl. § 397) gebracht, mit Wasser abgespült, im salzsauren Alkohol differenziert (nicht zu stark!) und mit abs. Alkohol gewaschen. Dann färbt man 3—5 Minuten in Gentianaviolett (11 ccm einer konz. alkoholischen Lösung auf 100 ccm Anilinwasser) und bringt sie für 1—3 Minuten in Jodjodkaliumlösung (1:2:300), in der die Schnitte vollkommen schwarz werden. Nun werden sie in 96%igem Alkohol differenziert, bis sie violett mit einem Stich ins Bräunliche werden. Resultat: Chromatinnetze der ruhenden Kerne, sowie auch im Spirem- und Dyspiremstadium blauviolett, echte Nukleolen rot; im Aster- und Dyasterstadium färbt sich das Chromatin dagegen rot. Die Protoplasmastrukturen sind ebenfalls sehr deutlich sichtbar und gelbbraun gefärbt. Die Köpfe, Mittelstücke, Schwänze, Spiralfäden usw. erscheinen deutlich und in verschiedenen Farben: rotblau, violettblau usw.

1255. Auch die Schultzesche Osmium-Hämatoxylin-Methode (§ 371 u. 372) gibt gute Resultate.

Die **Plastosomen** stellt man nach den in § 534—556 angegebenen Methoden dar.

1256. Regaud fixiert zur Darstellung der Plastosomen der Spermien 24 Stunden bis 4 Tage in folgender Lösung: 3%ige Kaliumbichromatlösung 100 ccm, Eisessig 5 ccm, Formol 20 ccm (2—3 mal wechseln), chromiert ohne Auswaschen 8 Tage in 3%iger Kaliumbichromatlösung, wäscht 24 Stunden in Wasser und bettet in Paraffin ein. Die Schnitte werden 10 Tage in 5—10%iger Eisenalaunlösung gebeizt und mit dem in §552 angegebenen Hämatoxylin in der dort angegebenen Weise gefärbt. Bei dieser Behandlung bleiben die Plastosomen des Syncytiums und der Auxocyten ungefärbt oder sehr blaß. Fixiert man dagegen nach der in §539 angegebenen Weise, so treten die Plastosomen der letztgenannten Zellen scharf hervor, während die der Spermien beinahe farblos bleiben.

1257. Zur **Lebendbeobachtung** der Plastosomen der Geschlechtszellen ist vor allem Material von Geotriton fuscus (vgl. Terni) geeignet, ferner von Drohnenhoden (vgl. bei Buchner, S. 231).

1258. Material für Spermatogenese. Von Wirbellosen sei besonders Paludina vivipara empfohlen (vgl. Meves (03), bei der man den ganzen Sommer über geeignete Stadien antrifft. Von niederen Wirbeltieren eignen sich besonders Salamandra maculosa. Man fixiere dieselben im September und Oktober, da zu dieser Zeit die Spermatogenese in vollem Gange ist. Bei rana esculenta findet man entsprechende Stadien im August, bei Vögeln zu Ende der Winterperiode und Anfang des Frühjahrs. Kaninchen, Ratten, Mäuse und Meerschweinchen bieten während des ganzen Jahres geeignetes Untersuchungsmaterial.

1259. Zur **Fixierung der Ausführungswege** und der anhängenden Drüsen eignen sich alle gebräuchlichen Methoden. Für feinere Untersuchungen kommt besonders die Zenkersche, Heldsche und Flemmingsche Flüssigkeit in Betracht.

1260. Zur Fixierung der **glandula bulbo-urethralis** (und vestibularis maior) empfiehlt Schaffer (18) das Formol-Alkoholgemisch (1:2, vgl. §119), das besonders die Prämucingranula gut erhält (ebenso auch in anderen schleimproduzierenden Drüsen). Mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain färben sich im Protoplasmanetz der Drüsenzellen feinste Körnchen. Sehr scharfe Bilder erhält man, wenn man die Schnitte 24 Stunden bei 37° C in Erlickischer Flüssigkeit beizt, einige Minuten in Wasser abwäscht und dann nach Mallory (§781) färbt. Im Zelleib treten

dabei scharf blau gefärbte Einschlüsse auf. (Atraktosomen.)

28. Kapitel. Die Untersuchung der innersekretorischen Organe.

1261. Zur Gewinnung von Übersichtsbildern kommen die gebräuchlichen Fixierungs- und Färbungsmethoden in Betracht. Für spezielle Zwecke seien folgende Methoden angeführt.

Thyreoidea.

1262. Kraus (14) fixiert bei 37° C in 4%iger Formollösung und bettet vorsichtig in Paraffin ein. Bei Fixierung in Zenkerscher Flüssigkeit erhält man starke Schrumpfungen des Kolloids, so daß ihre Anwendung trotz der guten Darstellung der Zellen, wenn es sich um Beurteilung der Kolloidsekretion handelt, nicht ratsam ist. Bei Formolfixierung treten vielfach Vakuolen auf.

Zur Färbung bringt Kraus die paraffinbefreiten Schnitte aus Wasser für 6 Minuten in polychromes Methylenblau, spült im Wasser ab und differenziert so lange in einer 25%igen, wässerigen Tanninlösung, bis keine gröberen Farbwolken mehr abgehen. Dann überträgt man in Fränkels Säurefuchsin-Tanninlösung, bis die Zellkerne scharf blau, das Bindegewebe rot erscheint. Hierauf gutes Auswaschen in Wasser und Nachfärben in einer 2%igen, wässerigen Säurefuchsinlösung während etwa einer Minute. Abspülen in Wasser und Einstellen in eine 1%ige Phosphormolybdänsäure für 30 Sekunden, Auswaschen in Wasser, Abtrocknen, rasch durch abs. Alkohol in Toluol und Balsam.

Die Säurefuchsin-Tanninlösung besteht aus einem Gemisch einer 0,5%igen wässer. Säurefuchsinlösung, einer 33%igen Tanninlösung und einer Glycerinaethermischung (Unna) zu gleichen Teilen.

1263. Traina (101) beobachtet an Follikelepithel sublimatfixierter Präparate bei Färbung nach § 794 einen blauen Bürstenbesatz.

1264. Gute Resultate gibt die Fixierung in Flemmingscher Flüssigkeit, die auch das Kolloid gut erhält.

Hypophysis.

1265. Für die Fixierung der Hypophyse eignet sich auch die Zenkersche oder Heldsche Flüssigkeit. Färbt

man dann nach May-Giemsa (s. § 446), so erhält man sehr gute Differenzierung von acido-, baso- und amphophilen Zellen. Auch die Pasinische Färbung gibt schöne Bilder.

Schöne Resultate bekommt man auch bei Fixierung nach Bouin (§ 163) und Färbung nach Dominici (§ 440). Dabei treten besonders die acidophilen Zellen scharf hervor.

1266. Kraus empfiehlt hiefür die gleiche Methode wie für Schilddrüsen (s. § 1262); die Differenzierung ist bei diesem Organ jedoch schwieriger. Die Differenzierung in der Säurefuchsin-Tanninlösung ist unter dem Mikroskop vorzunehmen bis alle bastophilen Zellen fast rötlich erscheinen, während die eosinophilen die blaue Farbe beibehalten.

Bei einer anderen Methode fixiert Kraus (12) zur Darstellung der eosinophilen Zellen in Formol und beizt 5 μ dicke Paraffinschnitte über Nacht in 5%iger Kaliumbichromatlösung (bei 37° C). Nach gutem Abspülen wird 24 Stunden in reifem Haematoxylin nach Kultschitzky (s. § 999) gefärbt (Zimmertemperatur), in Wasser gespült und in einfach verdünnter Boraxferricyankaliumlösung (s. § 994) differenziert, bis basophile Zellen hellbräunlich. Gründliches Auswaschen eventuell Nachfärben mit Pikrofuchsin, Alk., Xylol, Balsam. Eosinophile Zellen schwarz granuliert.

1267. Zur Darstellung der **Neuroglia** fixiert man nach § 192 und bringt durch reichlichen 96%igen Alkohol in Paraffin. Färbung nach Fieandt § 1054 (s. auch Stumpf 11).

1268. Über die **Lipoide** der Hypophyse und deren Darstellung vgl. die in Kap. 13, E angegebenen Methoden, sowie Kraus 12.

Epiphysis.

1269. Zur Darstellung der **Gliafasern** der Epiphysis fixiere man in Orthscher oder Zenkerscher Flüssigkeit und färbe mit der Malloryschen Bindegewebefärbung. Das Gliagewebe färbt sich rötlich, das Bindegewebe blau.

1270. Zirbeldrüsen älterer Tiere muß man wegen der reichlichen **Kalkablagerung** entkalken. Fixiert man in einem trichloressigsäurehaltigen Gemisch (vgl. § 192 ff.), so erfolgt die Entkalkung bereits während der Fixierung.

1271. Ausführliche Angaben über die Technik findet man bei Krabbe (16). Krabbe empfiehlt für **Kernstrukturen:** Methylgrün-Pyronin (§ 434); für **Protoplasmastrukturen:** Säurefuchsinlichtgrün nach Alzheimer (§ 957)

und die Gliafärbung nach Fieandt (§ 1054); für **Nerven- und Gliazellen:** die Methode von Golgi (§ 996); für **Nervenfasern:** Die Methoden von Cajal (§ 988) und Bielschowsky (§ 983f.); für **Gliafasern:** Säurefuchsinlichtgrün nach Alzheimer (§ 957); für **Markscheiden:** die Methode von Weigert-Kultschitzky-Wolters (§ 1002); für **Bindegewebe:** die Methode von Hansen (§ 796) und Mallory (§ 781); für **Mastzellen** und **Wanderzellen:** die Methode von Dominici (§ 440), Methylgrün-Pyronin (§ 434), Sudanfärbung (§ 575).

Parathyroidea.

1272. Epithelkörperchen findet man besonders leicht an der median- und dorsalwärts gekehrten Innenseite der Pferdeschilddrüse. Sie besitzen bei diesem Tier etwa Erbsengröße. Man fixiert nach Carnoy, Held, Zenker oder Flemming.

Thymus.

1273. Zur Fixierung und Färbung der Thymus kommen hauptsächlich die in § 1095 ff. für blutbildende Organe angegebenen Methoden in Betracht. Zur Darstellung der Lipoide fixiere und färbe man nach Ciaccio (§ 588). Das Reticulum und die Hassalschen Körperchen treten bei Anwendung der Methode von Pasini (§ 786) gut hervor.

1274. Als Material kommen besonders Drüsen des Fötus oder Neugeborenen in Betracht. Bei älteren Tieren ist das Drüsenparenchym stark reduziert, der Unterschied zwischen Mark und Rinde verwischt und die Zahl der Hassalschen Körperchen vermindert. Hunger führt zu einer starken **Involution** der Drüse (Hammar 10 u. a.) ebenso Röntgenbestrahlung (Rudberg 07 u. a.).

Pankreas.

1275. Über die Untersuchung der **Langerhann'schen** Zellinseln, vgl. § 1173.

Keimdrüsen.

1276. Zur Darstellung der **interstitiellen Zellen** des **Hodens** (Leydigsche Zellen) fixiert man in Formol und färbt Gefrierschnitte mit Sudan III. Die Zellen treten dann durch ihre orangerote Farbe deutlich hervor.

1277. Da die Gefriermikrotomschnitte bei Hoden häufig mangelhaft ausfallen, ist es oft besser, die Lipoide

der interstitiellen Zellen durch **Osmierung** zu schwärzen. Man fixiert dazu kleine Stückchen in Flemmingscher Flüssigkeit oder legt dünne Scheiben von formolfixiertem Material auf 24 Stunden oder länger in 1—2%ige Osmiumsäure (oder Flemmingsche Flüssigkeit). Bei der Einbettung hat man das in § 568 f. Gesagte zu beachten.

1278. Am sichersten läßt sich die Lösung der osmierten Substanzen durch die Anwendung der **Gelatineeinbettung** nach Gaskell (s. §. 241) vermeiden. Gefrierschnitte von derart eingebettetem Material kann man unter Vermeidung der Osmierung auch mit Sudan färben.

1279. Auch die Methode von **Ciaccio** (s. § 588) gibt brauchbare Resultate, doch ist dabei immer eine nicht ganz vollständige Erhaltung der Lipoidsubstanzen in Rechnung zu ziehen.

1280. Die **intrazellulären Eiweißkristalle** stellt man an formolfixierten Präparaten am besten mit der Heidenhainschen Eisenhämatoxylinfärbung dar.

1281. Sehr deutlich treten die Zwischenzellen bei Schnitten durch kryptorchistische Hoden hervor, da hier die eigentlichen Hodenkanälchen schwächer als gewöhnlich entwickelt sind.

1282. Die gleichen Methoden verwendet man bei der Darstellung der **interstitiellen Zellen des Ovariums,** bei dem sich auch Gefrierschnitte leicht herstellen lassen. (Über die interstitiellen Zellen vgl. Aschner 17.)

Nebennieren und chromaffines Gewebe (Paraganglien).

1283. Zur Darstellung der **chromaffinen Zellen** im Nebennierenmark und in den Paraganglien muß man in chromhaltigen Flüssigkeiten fixieren. Die Fixierung hat in möglichst frischem Zustand zu erfolgen. Das Gewebe ist gegen Druck (beim Schneiden u. dgl.) sehr empfindlich.

1284. Sehr gute Resultate gibt die von Wiesel angegebene Flüssigkeit:

5%ige Kaliumbichromatlösung . . .	10 ccm
10%ige Formollösung.	20 »
dest. Wasser	20 »

Man fixiert 1—4 Tage, überträgt dann noch für 1 bis 2 Tage in 5%ige Kaliumbichromatlösung, wäscht 24 Stunden in fließendem Wasser und bettet in Paraffin ein.

Auch Fixierung in Orthscher Flüssigkeit gibt gute Resultate. Ungefärbte, in Glyzerin eingelegte Gefrierschnitte von derart fixiertem Material zeigen die Braunfärbung der chromaffinen Zellen am besten.

1285. Färbung. Wiesel färbt die nach § 1284 fixierten Schnitte 20 Minuten in 1%iger, wässeriger Toluidinblaulösung, wäscht 5 Minuten in Brunnenwasser, färbt 20 Minuten in 1%iger, wässeriger Saffraninlösung und differenziert in 96%igem Alkohol, bis die blaue Farbe wieder hervortritt. Karbolxylol, Xylol, Balsam. Resultat: chromaffine Zellen grün, Kerne rot, Protoplasma der übrigen Zellen blau.

1286. Schmorl fixiert in Formalin oder Orthscher Flüssigkeit und färbt Gefrier- oder Paraffinschnitte 24 Stunden in verdünnter Giemsalösung. (10 Tropfen auf 10 ccm dest. Wasser), spült in dest. Wasser ab, differenziert kurz in 0,25%iger Essigsäurelösung und bringt durch Alkohol und Xylol in Balsam oder besser Zedernholzöl. Resultat: chromaffine Zellen grün, Kerne tiefblau. Pigment der Rindenzellen gelbbraun.

1287. Bei einer weiteren Methode färbt Schmorl in Orthscher Flüssigkeit oder nach § 1284 fixierte Präparate 1—24 Stunden wie in § 1286 in Giemsalösung (am besten Gefrierschnitte), fängt die Schnitte nach Abspülen in Wasser auf dem Objektträger auf, tupft vorsichtig mit Fließpapier ab und übergießt mit säurefreiem Azeton (das ev. mit einer konz. Kal. acet.-Lösung geschüttelt wurde, vgl. § 740), sodann Xylol, Balsam oder Zedernöl. Resultat: Markzellen leuchtend rotviolett, Rindenzellen blau.

1288. Zum Nachweis der **Fett- und Lipoidsubstanzen** der Rinde wendet man die in Kap. 13, E angegebenen Methoden an. Dabei hat man zu beachten, daß sich die in der Rinde vorhandenen, mit Osmiumsäure schwärzenden Lipoidsubstanzen beim Einbettungsprozeß (in Toluol, Benzol, Chloroform, Bergamottöl, auch in Terpineol bei längerer Einwirkung) sehr leicht lösen (vgl. § 569). Am besten nimmt man die Osmierung an Gefrierschnitten vor und bringt dieselben durch Alkohol und Terpineol (letzteres nur kurze Zeit) in Paraffinum liquidum.

1289. Die **doppeltbrechenden Lipoide** der Rinde muß man an frischen oder formolfixierten Schnitten im Polarisationsmikroskop untersuchen (s. § 19). Weltmann (13) färbt formolfixierte, auf 80° C erwärmte Schnitte mit Nilblausulfat und beobachtet im polarisierten Licht.

1290. In der Nebenniere des Frosches findet man außer chromaffinen und Rindenzellen noch eine dritte Zellart (sog. Sommerzellen), die in ihrem Protoplasma bei Hämalaun-

Eosin- oder Triacidfärbung rote Granulationen zeigt (acidophile Zellen von Patzelt und Kubik 12). Die Granula färben sich auch bei Anwendung der Wieselschen Methode (s. § 1285) rot (Walter).

29. Kapitel. Untersuchung von Haut, Haaren, Nägeln und sensiblen Nervenendigungen der Haut.

1291. Menschliche Haut verschafft man sich am besten aus der chirurgischen Klinik, doch genügt für Übersichtsbilder auch Leichenmaterial. Man fixiert in Formol, Formol-Alkohol, Sublimat, Eisessig, Zenkerscher oder Heldscher Flüssigkeit od. dgl. Auch Fixierung in abs. Alkohol gibt gute Resultate. Für verschiedene Färbungen ist sie sogar notwendig (s. z. B. bestimmte Methoden von Unna). Für feinere Untersuchungen kommt ferner die Flemmingsche Flüssigkeit in Betracht.

1292. Wichtig ist, daß die Hautstücke nicht lange im Alkohol liegen bleiben, da sie in ihm mit der Zeit steinhart werden. Will man Material uneingebettet aufbewahren, so bringe man es durch die Alkoholreihe in wenigen Tagen in ein geeignetes Öl, wie Zedernholzöl, Terpineol, Paraffinum liquidum od. dgl.

1293. Am besten bettet man Hautstücke in Zelloidin ein, doch lassen sich kleinere Stücke, wenn man sie nicht lange in Alkohol läßt und durch Chloroform oder Zedernöl in Paraffin bringt, auch in Paraffin schneiden. Dabei soll der Aufenthalt der Stücke in heißem Paraffin ebenfalls möglichst beschränkt werden; oft ist es zweckmäßig, Paraffin vom Schmelzpunkt 50° C zu verwenden. Von manchen Autoren wird empfohlen, die Hautstücke aus schwach prozentigem Alkohol durch Azeton in Paraffin überzuführen, um dadurch den hochprozentigen Alkohol zu vermeiden. Für feinere Untersuchungen ist dieses Verfahren nicht empfehlenswert.

1294. Sehr gut läßt sich stark verhornte Haut auf dem Gefriermikrotom schneiden, zumal wenn man das Unterhautzellgewebe durch vorherige Alkoholbehandlung etwas entfettet hat.

1295. Für **Übersichtsbilder** färbe man mit Hämalaun-Eosin. Sehr kontrastreiche Bilder geben die Färbungen von Mallory und von Pasini. Beide leisten auch zur Darstellung der Epithelfibrillen gute Dienste.

1296. Zur Unterscheidung der gewöhnlichen und der sauren Kerne der Haut dient die in § 526 angegebene

Methode von Unna. Die Sauerstoff- und Reduktionsorte Unnas werden nach § 612 dargestellt.

1297. An Schnitten von frisch mit Osmiumsäure fixierter Epidermis differenziert sich das **Stratum corneum** in drei Schichten: in eine schwarze oberflächliche, eine farblose mittlere und eine schwarze tiefere.

1298. Hornsubstanzen (Keratin) färben sich nach der Gramschen Methode (s. § 397) intensiv blau (Ewert 96). Zur Unterscheidung von anderen, sich ebenfalls nach Gram färbenden Elementen differenziert man kurze Zeit mit schwachem Salzsäure-Alkohol, in dem alles, bis auf die Hornsubstanz entfärbt wird. Mit Eisenhämatoxylin (Heidenhain) wird sie schwarz tingiert. Bei Anwendung der Malloryschen oder Pasinischen Methode färbt sich das Keratin leuchtend orange bis rot.

1299. Das **Stratum lucidum** färbt sich nach Fixierung in Alkohol, Chromsäure (gut auswaschen) oder Müllerscher Flüssigkeit mit Pikrokarmin gelblich.

1300. Im **Stratum granulosum** lassen sich die **Keratohyalinkörner** durch Hämalaun, Karmin oder Safranin sehr deutlich färben. Unna überfärbt mit Hämatoxylin und taucht für 10 Sekunden in eine 0,5%ige Lösung von übermangansaurem Kali. Die Keratohyalinkörper sind dann scharf blauschwarz gefärbt. Nach der Methode von Pasini färbt sich das Keratohyalin rot.

Konzentrierte wässerige Kresylechtviolettlösung (Leonhardt & Co. Mühlheim a. M.) färbt die Keratohyalinkörner metachromatisch rot. Man färbt 3—4 Minuten, wäscht mit Wasser aus, zieht die Farbe mit 90%igem Alkohol aus, bis das Bindegewebe entfärbt ist und bringt rasch durch abs. Alkohol in Xylol und Balsam. Die Hornsubstanz färbt sich dabei violett.

1301. Nach Waldeyer (82) quellen die Keratohyalinkörner in 1—5%iger Kalilauge in der Kälte auf und werden dabei hell. In der Wärme lösen sie sich gleichzeitig mit den Zellen, in denen sie eingeschlossen sind (Pferdehuf). Durch Ammoniak werden die Körner nicht verändert, und man kann dieses Reagens zum Nachweis des Keratohyalins mit Vorteil gebrauchen, da die meisten Gewebe in Ammoniak durchsichtig werden. Salpeter- und Salzsäure wirken ähnlich wie Alkalien. In Essigsäure und Eisessig bleiben die Keratohyalinkörner längere Zeit unverändert; da die Essigsäure die Epithelien rasch zum Quellen bringt und aufhellt, so kann man diese ähnlich wie Ammoniak vorteil-

haft zum Nachweis des Keratohyalins benutzen. Das kohlensaure Natron 1%ig macht die größeren Schollen durchsichtiger und läßt sie aufquellen. Die größeren Körner sind weniger widerstandsfähig wie die kleinen. In Alkohol, Chloroform und Äther bleiben die Körner unverändert. In Glyzerin-Pepsin-Extrakt und Trypsin lösen sie sich auf.

1302. Im Gegensatz zu den Keratohyalinkörnern färben sich die **Eleidin-Tropfen** nicht mit Hämatoxylin. Das Eleidin schwärzt sich in Osmiumsäure. In Alkannatinktur färbt es sich rot, in alkoholischer Nigrosinlösung schwarz.

1303. Buzzi (96) färbt nach Alkoholfixierung 2 bis 3 Minuten in stark verdünnter, wässeriger Kongorotlösung (2—3 Tropfen einer 1%igen, wässerigen Lösung auf 5—10 ccm Wasser), wäscht aus, färbt mit Hämalaun od. dgl., wäscht nochmals aus und bringt durch abs. Alkohol in Xylol und Balsam. Das Eleidin ist rot, das Keratin blau gefärbt. Differenzierung in Alkohol. Salzsäure ist zu vermeiden, da sonst der rote Ton des Kongorotes in blau umschlägt.

1304. Die Beziehungen der Riffe der Zellen des Stratum Malpighii, spinosum, zueinander sind an dünnen Schnitten ohne weiteres wahrzunehmen (vgl. § 671 ff.).

1305. Will man Zellen der Epidermis, namentlich des Stratum Malpighii, isolieren, so empfiehlt sich kurze Behandlung mit Trypsin. Frische Epidermis wird in einer wässerigen, in der Kälte gesättigten, filtrierten Lösung von Pancreatinum siccum auf 3—4 Stunden in einem auf 40° gewärmten Raum mazeriert. Die so behandelten Stücke können lange Zeit in Glyzerin-Wasser-Alkohol zu gleichen Teilen aufbewahrt werden. Solchen Stücken entnommene Fetzen lassen sich zerzupfen und zeigen sehr instruktive Bilder der Riffzellen (Schiefferdecker, 86).

1306. Um **Zellverbindungen** deutlicher darzustellen, färbt Schuberg die Schnitte mit Dahlia 0,3—1 g, Eisessig 12—20 ccm und Wasser 80—85 ccm einige Minuten lang; es wird mit Wasser gewaschen, in 10%iger Tanninlösung 5 Minuten fixiert, wieder gewaschen, mit 1%iger Brechweinsteinlösung 5 Minuten behandelt; Wasser, Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

Vgl. ferner die Methoden von Kolossow (§ 671 f.) und Woronin (§ 674).

Darstellung der Epithelfibrillen.

1307. Bei Anwendung der Methode von Pasini (s. § 786) färben sich die **Epithelfibrillen** rot, das Zellprotoplasma hellblau, die kollagenen Fibrillen dunkelblau.

1308. K. Herxheimer färbt dazu dünne Schnitte von alkoholfixierter Epidermis 10 Minuten mit ges. Gentianaviolettlösung in Anilinwasser, behandelt 1—2 Minuten in Jodjodkalilösung (1 : 2 : 300) und differenziert unter dem Mikroskop in Anilinöl-Xylol (1:2). Kromayer färbt ähnlich; er nimmt statt Gentianaviolett: Methylviolett 6 B, färbt 5 Minuten und behandelt nur 1 Sekunde mit Jodjodkali. Vorfärbung mit Karmin (vgl. auch Beneke § 747).

1309. Wichtig bei all diesen Modifikationen ist, das Material in Alkohol zu fixieren. An anders fixierten Schnitten mißlingt die Färbung leicht. Die Schnittdicke soll nicht über 5 μ betragen.

1310. Sehr klare Präparate gibt die Unnasche Wasserblau-Orcein-Eosinfärbung (s. § 674). Fixierung in abs. Alkohol oder Formalin.

1311. Sehr schöne Epithelfasern sieht man in Schnittpräparaten von embryonalen Hufanlagen, die man in Sublimat-Eisessig fixiert und in Eisenhämatoxylin vorsichtig färbt (s. Heidenhain 11). Auch das gewucherte Epithel an den Rändern von Kankroiden liefert sehr günstiges Material.

1312. Nagel. Zur Gewinnung von Schnittpräparaten des Nagels verwendet man am besten Material von Föten oder von Kindern der ersten Lebensjahre. Man fixiert in Formol (Martinotti 15) und schneidet vorteilhaft auf dem Gefriermikrotom. Will man den Zusammenhang zwischen Nagelbett und Periost des Knochens erhalten, so entkalkt man nach der Fixierung in 5%iger Salpetersäure, behandelt in 5%iger Alaun- oder Natriumsulfatlösung nach (vgl. § 857) usw.

1313. Die Elemente des Nagels isoliert man in konz. Kalilauge, welche man bis zum Kochen erwärmt und abkühlt. Fetzen des weich gewordenen Nagels lassen sich dann auf dem Objektträger durch Andrücken des Deckglases isolieren.

1314. Onychin ist in Essigsäure, Salpetersäure, in Alkalien sowie in künstlicher Verdauungsflüssigkeit unlöslich (W. Krause, Hertwigs Handbuch).

Untersuchung von Corium und Subkutis.

1315. Corium und **Subkutis** werden nach den für Bindegewebe gebräuchlichen Methoden untersucht. Will man

die Fettzellen geschwärzt erhalten, dann fixiert man in Flemmingscher Lösung. Bei Paraffineinbettung bekommt man leicht Schrumpfungen, weshalb die Zelloidin-Einbettung vorzuziehen ist.

1316. Mit 10proz. Kochsalzlösung läßt sich die Epidermis vom Korium abmazerieren.

1317. Die **elastischen Elemente der Cutis** färbt man mit Resorcinfuchsin (§ 814) oder Orcein (§ 818). Nach Stöhr und O. Schultze färbt nach Fixierung in Flemmingscher Flüssigkeit auch Safranin, nach § 394 angewendet, elastische Fasern der Haut und der Gefäße rot. Mit Osmiumsäure allein behandelte Präparate lassen die elastischen Fasern ebenfalls erkennen.

1318. Maximow löst **Neutralrot** in physiol. Kochsalzlösung bis zur Sättigung und erzeugt durch Injektion derselben mit einer Rekordspritze im Korium eine Ödemkugel. Derselben werden dann mit einer Schere einzelne Fetzen entnommen und gezupft. Kerne, Mastzellen, die Körper der Bindegewebszellen usw. erscheinen mehr oder weniger gefärbt.

1319. Zur Darstellung **membranartiger Bildungen** an Bindegewebsfasern und zur Sichtbarmachung **feinster Fäserchen** an Schweißdrüsen, Talgdrüsen usw. empfiehlt Herxheimer (15) folgende Methode: Fixierung in Formolalkohol. Möglichst dünne Schnitte werden 36—48 Stunden bei 37° C in **Giemsalösung** (2—3 Tropfen Azur-Eosin auf 1 ccm dest. Wasser) gefärbt. Auswaschen in dest. Wasser 1—2 Stunden. Differenzieren in einer 0,25%igen **Tanninlösung** (30 Minuten oder länger). Abtrocknen, Xylol, Balsam (zwischen dem Abtrocknen und dem Xylol schalte ich zur Entwässerung noch Terpineol ein). Man findet an jeder rotgefärbten Bindegewebsfaser noch azurblaue Konturen, die einen membranartigen Eindruck erwecken.

1320. Krugenberg und Thielemann (19) geben zu der in § 532 angeführten **Wasserblau-Eosin-Phloxinfärbung** (WEP), die sie besonders auch für Hautschnitte empfehlen, noch folgende Ergänzungen:

a) Vorhergehende Verdauung mit Pepsin-Salzsäure: Zeigen nach § 532 gefärbte Schnitte eine stark violette Überfärbung, so bringt man sie das nächste Mal vor der Färbung 1 Stunde in eine Mischung von 0,5proz. Pepsin und 0,5proz. Salzsäure. Die Schnitte geben nach dieser Vorverdauung weit durchsichtigere und klarere Bilder, was die Autoren auf die Entfernung leicht verdaulicher basischer Eiweiße zurückführen.

b) Verbesserung der Färbung durch alkalische Entfärbung: 1. Färbung des Schnittes in 0,5proz. WEP-Lösung, 4 Minuten. 2. Kurz abspülen in Leitungswasser. 3. Entfärben ½ Minute in einer 0,1proz. Lösung von Ammoniumkarbonat in abs. Alkohol. 4. Entfärben in 0,1%iger wässeriger Essigsäurelösung. 5. Kurz abspülen in Leitungswasser. 6. Abs. Alkohol, Öl, Balsam.

c) Färbung mit Trioxychrom: **Wasserblau-Eosin-Phloxin-Echtgelb.** Man mischt 16 Tropfen einer 1%igen WEP-Lösung (Grübler) + 2 Tropfen einer 1%igen Eosinlösung + 2 Tropfen einer 1%igen Phloxinlösung + 2 Tropfen einer 1%igen Echtgelblösung. In dieser Mischung färbt man 4—5 Minuten, dann abspülen 1 Sekunde in Leitungswasser, eintauchen 1 Sekunde in Ammoniumkarbonat-Alkohol (s. oben), Wasser, 1 Sekunde salzsaurer Alkohol, Wasser, abs. Alkohol, Öl, Balsam. Resultat: Hornschicht und Haarwurzelscheide gelb; Kerne rot; kollagenes Gewebe: blau, ebenso das Protoplasma einzelner Bindegewebszellen; Protoplasma der Stachel- und Bindegewebszellen: violett.

d) Ein weiteres Trioxychromgemisch besteht aus **Benzoreinblau-Eosin-Phloxin-Pikrinsäure.** Man mischt 3 Tropfen einer konz. wässerigen Pikrinsäurelösung, 4 Tropfen einer 0,5%igen Eosinlösung; 4 Tropfen einer 1%igen Phloxinlösung, 4 Tropfen einer 1%igen Benzoreinblaulösung. Färbung 5 Minuten. Kurzes Abspülen in Leitungswasser, Entfärben in Ammoniumkarbonat-Alkohol (s. o.) 2 Minuten eintauchen in 0,1%igen Essigsäure-Alkohol, 1 Sekunde abs. Alkohol, Öl, Balsam.

Untersuchung der Haare.

1321. Haare von Menschen und Tieren können unmittelbar unter das Mikroskop gebracht und unter Wasser untersucht werden. Die Nager haben eine sehr entwickelte Marksubstanz, und bei denselben ist auch das Oberhäutchen prägnant zu sehen. Für das Isolieren der Rinden- und Oberhäutchenzellen empfiehlt sich das Mazerieren in Kalilauge (von 33% unter Erwärmen, oder tagelang bei gewöhnlicher Temperatur) oder Natronlauge; Schwefelsäure konz. oder verdünnt, auch Ammoniak (wochenlange Mazeration) führt zum selben Ziel. — Man erwärme das Haar mit Schwefelsäure in einem Uhrschälchen, bis sich das Haar zu krümmen beginnt, und untersuche alsdann in Wasser: Rinden- und Markschicht sind in ihre Bestandteile zerfallen, das Haaroberhäutchen ebenfalls.

1322. Zur Herstellung von Schnittpräparaten fixiere man kleine Stücke einer frischen Kopfhaut in Formol, Formolalkohol, Heldscher Flüssigkeit od. dgl. Über

die Weiterbehandlung gilt das in § 1292 f. Gesagte. Oft nicht leicht ist die Orientierung der Schnittfläche, da man, um gute Präparate zu erhalten, das Haar entweder rein längs oder rein quer treffen soll. Bei Querschnitten darf man daher nicht parallel der Hautoberfläche schneiden, da das Haar die Haut in schräger Richtung durchdringt.

1323. Für **Haarentwicklung** empfiehlt Stöhr Teile der Stirnhaut eines 5—6 monatlichen Fötus in aufgespanntem Zustand (Korkplatte) zu fixieren; für Haarwechsel Längsschnitte des Nasenrückens 7½ monatlicher Föten.

1324. Tasthaare findet man in besonders schöner Ausbildung in der Oberlippe des Pferdes und beim Schwein

1325. Zur **Färbung** verwendet man Karmalaun-Pikro-Indigokarmin (§ 427) oder färbe nach Hämalaun mit Eosin, Orange und anderen Anilinfarben nach.

1326. Jodmethylviolett färbt besonders leicht die innere Haarwurzelscheide (Unna).

»Es gibt wohl kaum ein Körpergebilde, welches sich besser für die reiche Skala der Teerfarben eignet, wie Haar und Haarbalg.« (Merkel, Ergebnisse Bd. 1, S. 226.)

1327. Nach Schaffer (14) färbt sich die Epidermicula des Haares nach Fixierung in Kochsalz-Sublimat und langem Liegen in Alkohol in Delafieldschem Haematoxylin scharf blau. Fixiert man in Müllerscher Flüssigkeit und färbt mit Hämalaun, so färbt sich dagegen die innere Wurzelscheide blau.

1328. Um die die Hohlräume jedes Haares erfüllende Luft zu entfernen, bringt F. Werneke (16) die Haare auf dem Objektträger in etwas Glyzerin, bedeckt mit einem Deckglas und kocht vorsichtig über einer Spiritusflamme. Nach dem Kochen, das nicht zu lange fortgesetzt werden darf, da sonst Trübungen auftreten, wird umrandet.

1329. Über die **Untersuchung der Reptilienhaut** vgl. man die Arbeiten von W. J. Schmidt (1910—1914). Die Hautknochen mazeriert man vorteilhaft mit Kalilauge, wodurch die den Knochenplättchen aufgelagerte Guanophorenschicht gelöst wird. Weiterhin wird man nach den in Kap. 18 gegebenen Regeln Schnitte von entkalkten Präparaten und Knochenschliffe anfertigen.

1330. Empfehlenswert ist für Schnitte durch Reptilienhaut das Einlegen der gut fixierten und bereits alkoholbehandelten Präparate (vgl. § 844) in 5%ige Salpetersäure auf 12—24 Stunden oder länger. Weiteres wie in § 857.

1331. Die **Haut der Vögel** behandelt man nach Entfernung der Federn in der üblichen Weise. Greschik (16) fixiert in abs. Alkohol oder Sublimat-Eisessig und bettet in Zelloidin-Paraffin nach Apathy ein.

1332. Chitinhaltiges Material fixiert Scheurig (13) in einem Gemisch von abs. Alkohol 48 Teile, Formol 48 Teile und Eisessig 4 Teile. Einbettung in Zelloidin-Paraffin.

1333. Gute Resultate gibt die Fixierung in der Gilsonschen Flüssigkeit (s. § 187). Allenfalls behandelt man nach Fixierung und Alkoholhärtung noch 24 Stunden oder länger in 5—10%iger Salpetersäure.

In schwierigen Fällen kann man auch die Behandlung mit Eau de Javelle (vgl. § 1093) versuchen, wobei jedoch besondere Vorsicht nötig ist.

Über die Untersuchung des **Pigmentes** der Haut vgl. die in § 616—642 gegebenen Methoden.

Über die Biochemie der Haut siehe die gleichnamige Abhandlung von Unna (13).

1334. Zur Darstellung der **sensiblen Nervenendigungen** der Haut kommen im wesentlichen die in Kap. 20, § 1041 bis 1061 angegebenen Methoden in Betracht. Die größeren Endapparate, wie Vater-Pacinische Körperchen, Meißnersche Körperchen usw., sieht man schon an gewöhnlichen Hämalaun-Eosinpräparaten; über ihre Beziehungen zu den Nervenfasern erhält man aber nur bei Anwendung einer der genannten Methoden Aufschluß.

1335. Meißnersche Körperchen findet man in größerer Menge in den Bindegewebs-Papillen der Fingerbeere.

1336. Herbstsche und Grandrysche Körperchen trifft man in der Wachshaut des Entenschnabels sowie in den Gaumenleisten desselben Vogels. Sie lassen sich schon an gewöhnlichen Präparaten erkennen. Eine wahre Fundgrube für Herbstsche Körperchen ist die Zunge von Spechten (Ludwig Ferdinand von Bayern).

1337. Um die Verbindung der Körperchen mit den Nerven darzustellen, wende man die vitale Methylenblaufärbung an oder man verfahre nach einer von Carrière (42) empfohlenen Böhmschen Methode: Stücke einer frischen, mit dem Rasiermesser abgetragenen Wachshaut (mit Cutis bis zum Periost) des Entenschnabels kommen auf 20 Minuten in 50%ige Ameisensäure; nach flüchtigem Waschen mit destilliertem Wasser werden sie auf ebensolange Zeit in eine geringe Menge 1%iger Goldchloridlösung übertragen. Hierauf werden sie abermals einige Sekunden in destilliertem Wasser gewaschen und in 300 ccm der **Prichardschen Lösung** übertragen (Amyl-

alkohol 1 ccm, Ameisensäure 1 ccm, destilliertes Wasser 98 ccm). Hierin bleiben die Stücke im Dunkeln 24—36 Stunden, werden mit Wasser abgespült, mit Alkohol gehärtet und geschnitten.

1338. Vater-Pacinische Körperchen findet man sehr zahlreich im Mesenterium der Katze; hier sind sie oft mit freiem Auge schon wahrzunehmen. Die Nervenfäserchen ihres Innenkolbens stellt man mit der Methylenblau-Methode oder nach Bielschowsky dar.

1339. Um die **intraepidermalen Nervenendigungen** darzustellen, behandelt man Stückchen der Fingerbeere oder der Hornhaut nach der Goldmethode von Loewit (s. § 1050).

1340. Goldscheider (86) säuert Stückchen von Tastballen in einer 0,5%igen Arsensäure an, überträgt für 30 Minuten in 1—2%ige Goldchloridlösung und reduziert schließlich in 1%iger Arsensäure.

1341. Tastscheiben findet man sehr zahlreich im Rüssel des Schweines; man stellt sie nach Loewit oder leichter nach Boeke (s. § 1039) dar.

Auch die Methoden von Ramon y Cajal (§ 988) kann man bei jüngeren Tieren mit Erfolg anwenden.

Literatur zu Kap. 29 Ledermann und Ratkowski (94), Joseph (und Löwenbach (00), Dreuw (07), Dogiel (10), Botezat (12).

29. Kapitel. Die Untersuchung des Auges.

1342. Der bis auf die Sklera von Muskeln und lokkerem Bindegewebe befreite **Augapfel** wird in ganz frischem Zustand in Formol, Formol-Alkohol oder in Zenkerscher Flüssigkeit fixiert. Man läßt am besten ein Stück des N. opticus stehen und hängt ihn an diesem in der Fixierungsflüssigkeit auf.

1343. Früher war besonders die Fixierung in Müllerscher Flüssigkeit beliebt. Ein Auge von der Größe des menschlichen benötigt dazu 3 Wochen. Setzt man dagegen 5—10% Formol zu (Orthsche Flüssigkeit), so wird die Zeitdauer auf wenige Tage verkürzt und zudem das Fixierungsresultat gebessert. Auch Flemmingsche, Heldsche, Merkelsche (§ 172) oder Bouinsche Flüssigkeit, ferner Salpetersäure, Sublimat-Salpetersäure (gesättigte Sublimatlösung 100 ccm, Salpetersäure 5 ccm) können empfohlen werden.

Um das Eindringen der Lösungen zu begünstigen, kann man etwa 1 Stunde nach dem Einlegen in die Fixierungsflüssig-

keit in die Sklera größerer Augen kleine Fenster schneiden. Oder man zerlegt später nach einigen Stunden den Bulbus, wenn es nicht auf Totalpräparate ankommt, durch einen Äquatorialschnitt mit der Schere in eine vordere und hintere Hälfte. Im allgemeinen lassen Schnitte durch die ganze Dicke des Auges nur eine allgemeine Orientierung über die Topographie der Augenhäute und deren Schichtung zu, sind aber nicht geeignet für das Studium feinerer Details, für die spezielle Methoden anzuwenden sind.

1343a. Nach der Fixierung wird sorgfältig in fließendem Wasser gewaschen (nach Formol-Alkohol, Bouin u. dgl. in entsprechendem Alkohol) und in steigendem Alkohol sorgfältig entwässert.

1344. Als **Einbettungsmittel** kommt, besonders wenn Sklera und Linse mitgeschnitten werden soll, hauptsächlich **Zelloidin** in Betracht, da die genannten Gewebe in Paraffin außerordentlich hart werden.

1345. Zur **Fixierung des Glaskörpers** eignet sich besonders folgende von Szent-Györgyi (14) angegebene Flüssigkeit:

Azeton 125 ccm, Eisessig 5 ccm, Formalin 40 ccm, Sublimat 4 g, dest. Wasser 100 ccm.

Da die Lösung nicht haltbar ist, hält man sich am besten eine 4%ige Sublimatlösung vorrätig (oder man verdünnt eine gesättigte S.-Lösung etwa zur Hälfte mit Wasser) und setzt die übrigen Reagenzien unmittelbar vor Gebrauch zu. Kleinere Augen läßt man 2—3 Tage, größere 6—7 Tage in dem Gemisch, wonach man auf je 100 ccm weitere 50 ccm Azeton hinzufügt, und das Objekt noch 1—2 Tage bzw. 3—4 Tage in der Lösung beläßt.

Nach der Fixierung hängt man das Objekt direkt in reinem konz. Azeton für 3—4 Tage auf, wobei man dasselbe am 2. Tag erneuert und auf den Boden des Gefässes zur Entwässerung wasserfreies Calciumchlorid gibt. Hierauf überträgt man in Äther-Alkohol und in Zelloidin (3 Tage 2%iges, dann ebensolange 4%iges und schließlich 6%iges). Vor der Übertragung in das Zelloidin schneidet man vom Auge mit dem Mikrotommesser ein bis zwei seitliche Kuppen ab. Bei großen Augen (z. B. Mensch) durchtränkt man, um Schrumpfungen zu vermeiden, nur mit 1,2 und 3%iger Lösung.

Nach Ablauf obiger Zeit stellt man die zur Einbettung dienende, mit Zelloidin gefüllte Papierschachtel zur Erhärtung bis nahe an den Rand direkt in Chloroform.

Für die Untersuchung des Glaskörpers benutzt man am besten 150—200 μ dicke Schnitte. Mußte man in 3%igem Zelloidin einbetten, so ist die Konsistenz noch zu gering. Man nimmt daher den erstarrten Block aus der Schachtel, löst ringsherum die das Auge umgebende Zelloidinschicht ab, schneidet die Hornhaut mit einem Mikrotommesser weg und entfernt durch einen Einschnitt in die Iris auch sorgfältig die Linse. Dann spült man in Äther-Alkohol ab, bringt in 8%iges Zelloidin und bettet hier ein (Härtung durch Chloroform). In diesem festen Rahmen läßt sich das Auge dann gut schneiden.

1346. Zur **Färbung der Fibrillen des Glaskörpers** eignet sich nach Szent-Györgyi besonders das Molybdänhämatoxylin von Held (s. § 1023), das das Zelloidin nicht mitfärbt. Man verdünnt die mindestens 2 Wochen alte Lösung mit der 10fachen Menge dest. Wassers, färbt 24 Stunden und wäscht mehrere Stunden in dest. Wasser, Alkohol, Xylol, Balsam. Auch Färbung in Bleu de Lyon (s. § 429) liefert gute Resultate, während sich bei anderen Anilinfarben das Zelloidin stark mitfärbt. Weniger färbt sich Photoxylin, bei dem sich das Verfahren in der gleichen Weise, wie bei der Zelloidineinbettung, gestaltet.

1347. Sehr gute Resultate gibt nach Sz.-G. auch die Versilberung der Fibrillen nach einer von Lenhossek angegebenen Methode. Das frische Auge kommt dazu in ein Gemisch von Formalin 20 ccm, dest. Wasser 80 ccm, Argent. nitric. 1,5 g (täglich frisch erneuern). Kleine Augen (Schlange, Eidechse) werden darin 7 Tage, größere (Frosch, Meerschweinchen) 9 Tage behandelt. Hierauf wird in Pyrogallol-Merck 1,5 g; Formalin 0,5 ccm; dest. Wasser 100 ccm reduziert (24 Stunden, viel Flüssigkeit, mehrmals erneuern) und nach gründlichem Waschen (24—48 Stunden) rasch in Zelloidin oder besser in Gelatine eingebettet. Sz.-G. gibt dazu eine eigene Methode an. Doch scheint mir auch die in § 241 angegebene gangbar. Für große Augen ist die Silbermethode nicht geeignet.

1348. Die **Hornhaut** kleinerer Tiere kann, frisch ausgeschnitten, in einer indifferenten Flüssigkeit oder in Kammerwasser, das man durch Einstich einer fein ausgezogenen Kapillarröhre in die vordere Augenkammer gewinnt, untersucht werden. Die Epithelbewegung studiere man am Explantat (s. Oppel (13) und Kapitel 3).

1349. Das **vordere Hornhaut-Epithel** studiert man an Schnitten von Material, das in Flemmingscher oder

Orthscher Flüssigkeit fixiert ist. Für Mazerationspräparate verwende man Drittel-Alkohol (§ 658).

1350. Das **hintere** (Descemetsche) **Hornhautepithel** kann man durch Versilberung und nachträgliche Kernfärbung mit Karmin darstellen.

1351. Nuel (90) injiziert dem frisch getöteten Tier in die vordere Augenkammer, nachdem etwas Humor aqueus abgelaufen ist, 1—2%ige Ameisensäure. Dann wird das Auge enukleirt und 3—5 Minuten in 1%ige Osmiumsäure gelegt. Hierauf kann man die Hornhaut ausschneiden und sofort oder nach Karminfärbung untersuchen.

1352. Um das Descemetsche Epithel zu isolieren umschneidet man bei einem frisch getöteten Tier den Hornhautrand, krempelt die herausgenommene Cornea um und taucht sie auf 5 bis höchstens 10 Minuten in Sublimat-Eisessig oder Flemmingsche Lösung. Das fixierte Epithel läßt sich dann mit einem Pinsel leicht in größeren oder kleineren Stücken ablösen. Weitere Behandlung mit Alkohol. Färbung mit Eisenhämatoxylin. Im Protoplasma der Epithelzellen sieht man häufig Netzapparate, Phormien (Ballowitz 00), die dem Golgischen Binnenapparat entsprechen. Als besonders günstiges Objekt wird die Katze empfohlen.

1353. Die **Grundsubstanz der Hornhaut** läßt sich nach Mazeration in Kalkwasser z. B. (auch übermangansaurem Kalium) in Lamellen und Fibrillen zerlegen (Rollett, 72). Gewöhnliche kollagene Bindegewebsfasern quellen in Wasser nicht auf, wohl aber die Fasern der Hornhautgrundsubstanz. In der Grundsubstanz der Pferdehornhaut findet man nach Ciaccio eine beträchtliche Menge elastischer Fasern.

1354. Die **Hornhautkörperchen** können in vielfacher Weise untersucht werden. Es wird mit einem Lapisstift die vom vorderen Epithel befreite Hornhaut am lebenden Tiere (Frosch) geätzt. Schneidet man alsdann die Cornea aus und überträgt dieselbe in Wasser, so erscheinen alsbald die Hornhautkörperchen mit Ausläufern hell auf dunklem Grunde: **negative Versilberung** (Ranvier 81).

1355. Die dickeren Hornhäute größerer Tiere werden ebenso behandelt, müssen jedoch an Flachschnitten, die man mit der Hand anfertigt, studiert werden. Läßt man solche mit Höllenstein behandelte Hornhäute ein paar Tage im Wasser liegen, so entfärbt sich die Grundsubstanz, und die Körperchen werden dunkel: **positive** Bilder (Ranvier 81).

1356. Leber (68) behandelt die Cornea eines Frosches kurze Zeit mit einer ½—1%igen Lösung von Eisenoxyd-

sulfat; die Hornhaut wird auf einen Augenblick in destilliertes Wasser eingetaucht und kommt sofort in eine 1%ige Lösung von Ferricyankalium. Nach einigen Minuten sind die Hornhautkörperchen, zuweilen in der ganzen Dicke der Cornea, mit ihren Ausläufern gefärbt.

1357. Wenn man die Hornhaut in einer feuchten Kammer Osmiumsäuredämpfen aussetzt und dann in Wasser untersucht, bekommt man sehr deutliche Bilder der Hornhautkörperchen. Hornhautfibrillen, im Gegensatz zu gewöhnlichen kollagenen quellen im Wasser und brechen im aufgequollenen Zustande das Licht anders wie die Hornhautzellen, und deshalb werden diese deutlich sichtbar.

1358. Die Hornhautkörperchen können aber auch durch Vergoldung dargestellt werden, wobei die **Nerven der Cornea** ebenfalls gefärbt werden.

Speziell für die Hornhaut empfiehlt Ranvier (89) Goldchloridkalium in 1%iger Lösung. Eine Froschhornhaut kommt 5 Minuten in Zitronensaft (s. § 1052), dann ¼ Stunde in die eben erwähnte Goldlösung; reduziert wird im Lichte in schwach mit Essigsäure (2 Tropfen auf 30 ccm) angesäuertem Wasser 1—2 Tage.

1359. Von einer größeren **Hornhaut** der Säugetiere (z. B. Katze) lassen sich mehrere **Dauerpräparate** (mit Hornhautkörperchen und Nerven) gewinnen, wenn man dieselbe (z. B. nach Löwit. § 1050) vergoldet, nach dem Waschen in 70% Alkohol überträgt und darin nach wenigen Minuten (durch Anfassen am Rande und Ziehen mit zwei Pinzetten) in möglichst dünne Lamellen spaltet, und diese (event. halbiert) durch die Alkohole und Xylol in Kanadabalsam überträgt.

1360. Sehr gut lassen sich die Nerven der Hornhaut auch mit der vitalen Methylenblaumethode (s. § 1043) darstellen. Spezielle Angaben bei Attias 12.

1361. Die **Sklera** wird nach den Methoden, die für Bindegewebe (§ 781 ff.) angegeben worden sind, behandelt.

1362. Die **Vasculosa** und **Iris** werden am bequemsten an albinotischen Kaninchen studiert. Man unterlasse nicht, die Iris an sehr gut orientierten Objekten flach zu schneiden.

1363. Die Lymphgefäße der Chorioidea können mit der Altmannschen Methode zur Anschauung gebracht werden (s. § 1091 und bei Altmann [79], S. 500 ff.).

1364. An fixierten pigmentierten Augen kann man auf Kosten der guten Konservierung das Pigment mit Chlor- oder Bromwasser zerstören (s. § 631).

1365. Die Fasern der **Zonula Zinnii** (Fixierung: Sublimat oder Müllersche Flüssigkeit; Einbettung: Zelloidin) werden sehr gut mit Resorzinfuchsin gefärbt, ferner durch Molybdänhämatoxylin nach Held (s. § 1023). Weiteres bei Carlini 12.

1366. Die **Linse** ausgewachsener Tiere läßt sich nach jeder Vorbehandlung nur schlecht schneiden, am besten noch in Zelloidin, in Paraffin nur dann, wenn man nach jedem Schnitt die Schnittfläche des Paraffinblocks mit heißem Paraffin vermittelst eines weichen Pinsels rasch bestreicht. Diese Methode ist für harte und brüchige Objekte überhaupt zu empfehlen. Die Linsen älterer Tiere müssen vor dem Schneiden ausgebohrt, d. h. es muß der sog. Kern entfernt werden (C. Rabl, 94 und 00).

1367. An mit starker Salpetersäure (bis 30%) mazerierten Linsen lassen sich leicht die **Linsenfasern isolieren.**

1368. Levi (04) wendet für die Isolation der Linsenfasern 1—2%ige Natron-Fluoridlösung an.

1369. Isolation der Linsenfasern mit $^1/_3$ Alkohol. Frische Linsen werden 2 Stunden eingelegt, dann wird die Linsenkapsel durch Anstechen eröffnet, es verbleiben die Linsen noch 24 Stunden in $^1/_3$ Alkohol; es wird nun auf dem Objektträger in Glyzerin gezupft und nach Pikrokarminzusatz eingelegt und umrandet. Man studiere die verschiedenen Formen der Linsenfasern, vor allem beim Fisch und Säugetier.

1370. Die **Netzhaut** ist bei größeren Tieren an in toto behandelten Augen gewöhnlich mangelhaft fixiert, da die Sklera dem Eindringen der Fixierungsflüssigkeit großen Widerstand entgegensetzt. Man fixiere daher zu ihrem Studium kleine Stückchen, die man ev. unter physiolog. Kochsalzlösung herausschneidet oder halbiere den Bulbus durch einen äquatorialen Schnitt und entferne den Glaskörper oder fixiere nach § 101 durch Injektion.

1371. Zur Fixierung sind zu empfehlen: Flemmingsche Flüssigkeit, Sublimat-Eisessig (nach Zürn am besten: 100 ccm einer in physiolog. Kochsalzlösung heiß gesättigten Sublimatlösung und 1,5 ccm Eisessig), das in § 1372 angegebene Gemisch von Kolmer, und vor allem Osmiumsäure.

Die letztere wird nach Ranvier (89) folgendermaßen angewandt: Augen kleinerer Tiere: Maus, Triton, Frosch etc. werden herausgenommen, vorsichtig (ohne auf den Bulbus zu drücken) mit Schere von Muskeln etc. befreit und mit **Osmiumsäure**dämpfen $^1/_4 - ^1/_2$ Stunde geräuchert. (Größere

Bulbi müssen vor der **Räucherung** eröffnet und Glaskörper und Retina von innen geräuchert werden.) Nach der Räucherung ist die Retina genügend fixiert, und man kann das Auge unter $^1/_3$ Alkohol durch einen äquatorialen Schnitt eröffnen und in diesem einige (3—4) Stunden belassen. Die hintere Augenhälfte (mit dem Nerven) wird mit Pikrokarmin einige Stunden gefärbt und aus diesem in 1%ige Osmiumsäurelösung auf 12 Stunden übertragen, worin die definitive Fixierung der Elemente erfolgt. Es wird mit Wasser gewaschen, mit Alkohol entwässert und in Paraffin eingebettet.

1372. Kolmer (09) empfiehlt für Retina zur Fixierung konz. wässerige Kal. bichrom. 4, 10%iges wässeriges Formol 4, Eisessig 1 Teile. Bei Säugetieren vor Gebrauch zuzusetzen 1 Teil 50%ige Trichloressigsäure und 1 Teil konz. Lösung von Uranylazetat. Nach 24 Stunden wechseln ohne die beiden letzten Zusätze, dann belassen 1 Tag oder länger, selbst Monate. Auswaschen in fließendem Wasser, Alkohol, Zelloidin-Paraffindurchtränkung durch Zedernholzöl, Schwefelkohlenstoff.

1373. Man achte darauf, ob man **Dunkeltiere** oder dem Licht ausgesetzte fixiert, denn die Pigmentverteilung in der Retina und die Länge der Innenglieder der Zapfen verändern sich. Letztere werden nach Engelmann (85) bei **belichteten Tieren** kürzer.

1374. Osmiumsäure schwärzt die Stäbchen verschiedener Tiere, z. B. die des Frosches (Ranvier).

1375. Um **Sehpurpur** in Schnittpräparaten sichtbar zu machen, wird nach Stern (Referat von Schiefferdecker) ein Frosch 2 Stunden im Dunkeln gehalten (maximale Purpurbildung nach Kühne), bei rotem Lichte dekapitiert, die vordere Bulbushälfte samt Linse (bei erhaltenen Orbitalknochen, welche erst später entfernt werden) weggeschnitten und in 2,5%ige Platinchloridlösung (0,5—10%ige wirkt annähernd gleich) auf 12—14 Stunden eingelegt. Man entfernt nun die Orbitalknochen, bringt durch Alkohol und Xylol in Paraffin und schneidet 10—20 μ dick. Die Außenglieder der Stäbchen sind intensiv orange gefärbt. Bei Kaninchen und Katze geht diese Methode ebenfalls sehr gut. Auch Sublimat fixiert Sehpurpur in gelber Farbe, die aber bei der Nachbehandlung mit Alkohol, Xylol usw. verloren geht.

1376. Ist die Sklera zu hart, so kann man sie mit scharfem Messer an mit Paraffin durchtränkten Stücken nach Bedarf entfernen.

1377. Beim Studium der Retina begnüge man sich nie mit Querschnitten, sondern fertige auch gut orientierte

Flachschnitte an. Mit Recht weist W. Krause auf diesen Umstand hin und bemerkt, daß man, ohne Flachschnitte untersucht zu haben, schwerlich zu einer richtigen Vorstellung über den Bau der Zwischenkörnerschicht z. B. gelangen kann.

1378. Als weiteres Fixierungsmittel, das sehr gut die Außenglieder konserviert, aber auch bei der Isolation der Stützfasern Gutes leistet, ist die 10%ige Chloralhydratlösung anzuführen (Krause 84).

1379. Dogiel verfährt zur Färbung der Retina folgendermaßen: »Ein eben enukleirtes Auge eines Warmblüters wird durchschnitten, die Retina in Fetzen mit Pigmentschicht und Glaskörperresten vorsichtig aufgehoben, mit der äußeren Fläche nach oben, auf breite Objektträger gebracht und deren Oberfläche oder aber der Objektträger am Rande des Präparats mit einigen Tropfen einer $^1/_6$ bis $^1/_8$%igen Methylenblaulösung benetzt. Nach 5 Minuten wird jedes Stück auf ein reines Objektglas, doch dieses Mal mit der Nervenfaserschicht nach oben, übertragen, der Glaskörper teilweise vorsichtig mit einer Schere entfernt und dasselbe oder der Objektträger am Rande des Präparats mit 2—3 Tropfen der Methylenblaulösung angefeuchtet. Die Objektgläser werden alsdann in einer flachen Schale, die gut schließt, geordnet und in derselben in einem Thermostaten aufgestellt; von Zeit zu Zeit muß die Färbung der Nervenelemente unter dem Mikroskop kontrolliert werden; nach 30—40 Minuten hat die Färbung gewöhnlich den Höhepunkt erreicht, worauf die Präparate entweder direkt auf dem Objektglas fixiert oder aber von letzterem abgehoben und in die Fixierungsflüssigkeit gebracht werden. Bei kleinen Warmblütern nimmt man am besten die ganze Netzhaut auf einmal heraus, ebenso wie bei kleinen Kaltblütern (Frosch), bei denen jedoch die Färbung bei Zimmertemperatur vor sich geht.«

1380. Wenn man den Glaskörper entfernt und die Innenfläche der Retina versilbert, so erhält man deutliche Silberbilder von den Grenzen der Füßchen der **Müllerschen Fasern.**

1381. Für die Retina empfiehlt Ramon y Cajal (94a; vgl. auch § 967) folgendes, nach Golgi modifiziertes Verfahren: 1. Einlegen der hinteren Bulbushälfte nach Entfernung des Glaskörpers in Kaliumbichromat 3% bis 20 ccm, Osmiumsäure 1% 5—6 ccm auf 1—2 Tage. 2. Man trocknet dann die Stücke vorsichtig mit Fließpapier und

überträgt sie in ¾% Höllensteinlösung auf 24 Stunden. 3. Ohne vorheriges Abwaschen kommen die Stücke in die erste Osmiumbichromatlösung. Letztere muß etwas weniger Osmiumsäure enthalten (auf 20 ccm Kaliumbichromat von 3% etwa nur 2—3 ccm der 1%igen Osmiumsäure). 24—36 Stunden. 4. Abermaliges Einlegen in ¾% Höllensteinlösung auf mindestens einen Tag.

Um Niederschläge auf ein Minimum zu reduzieren, werden die abgelösten Retinae vor der Behandlung aufgerollt. Um das Wiederabrollen zu verhüten, übergießt man nach dem Ausrollen mit dünnem Kollodium oder Zelloidin.

1382. Um **Neurofibrillen der Retina** darzustellen, gibt R. y Cajal (04) zwei Methoden an. A. Frische Netzhautstücke von ausgewachsenen Kaninchen werden mit Sklera 3 Tage im Thermostat bei 30—35° in einer 1,5%igen Lösung von Silbernitrat belassen, in dest. Wasser einige Sekunden abgespült und auf 24 Stunden in Hydrochinon (resp. Pyrogallussäure) 1 g, Formol 5—10 ccm und 100 ccm dest. Wasser eingelegt. Nach kurzem (einige Minuten) Abspülen in dest. Wasser härtet man in Alkohol von steigender Konzentration und schneidet in Zelloidin. — B. Man fixiert in 50 ccm Alkohol von 96% mit 5 Tropfen Ammoniak, 24 Stunden; wäscht einige Sekunden in dest. Wasser, überträgt auf 4 Tage in 1%ige Silbernitratlösung bei 30°; weiter wie bei A. Wenn man zu der Reduktionsflüssigkeit $^1/_5$ von 96% Alkohol zusetzt, so heben sich die Fibrillen besser von der Grundsubstanz ab. In dieser Arbeit gibt R. y Cajal einen Versuch einer vorläufigen Theorie seiner Färbung.

1383. Galle wirkt eigentümlich lösend auf die Außenglieder der Stäbchen und Zapfen (Kühne, Dreser, [86]).

1384. Die Untersuchung des **nervus opticus** erfolgt nach den in Kap. 20 für das Nervensystem angegebenen Methoden. Über die Darstellung der **Glia** der Sehnerven vgl. C. Behr (15).

1385. Für Übersichtsbilder der **Orbitaldrüsen (Tränendrüse, Hardersche Drüse)** ist besonders Fixierung mit der Heldschen Flüssigkeit und Färbung nach Dominici zu empfehlen. Das Protoplasma der Drüsenendstücke färbt sich dabei bläulich, das des Ausführungsgangsystemes rotviolett. Zur Fixierung der feineren Zellstrukturen vgl. Hauschild (14).

Spezialabhandlungen über die Untersuchung des Auges: Greef (98) und Seligmann (99), ferner der Artikel »Auge« von Herzog in der Enzyklop. d. mikrosk. Techn. (1910).

30. Kapitel. **Die Untersuchung des Gehörganges.**

1386. Bei der Behandlung der **schallperzipierenden Organe** macht dem Anfänger in der Regel die richtige Orientierung des das Gehörorgan enthaltenden Felsenbeines Schwierigkeiten. Am leichtesten gelingt die Orientierung bei Nagern, da bei ihnen die Cochlea scharf gezeichnete Vorsprünge am Tegmen Tympani hervorruft.

1387. Man orientiert nach dem Vorgange Kolmers (09) für Schnitte durch das Labyrinth am besten so, daß die Schnecke parallel zum Modiolus getroffen wird. Hat man dann alle mittleren, die ganze Modiolusachse enthaltenden Schnitte aufgefangen, dann bettet man das Objekt um und schneidet von der Spitze beginnend senkrecht auf den Modiolus, wobei das Cortische Organ so orientiert wird, daß das Messer möglichst parallel zu seiner Oberfläche geführt wird.

1388. Um bei Material von größeren Tieren den Umfang der Schnittfläche durch Entfernung der unwichtigen Teile des Schläfenbeines tunlichst zu verringern, verfährt man am besten nach folgender von **Panse** angegebenen Methode: Das Schläfenbein wird zwischen sulcus sigmoideus und Warzenfortsatz festgeklemmt und zuerst die Schuppe in einer dem Tegmen tympani gleichlaufenden Ebene abgesägt. Ein zweiter Sägeschnitt geht, nachdem die Dura und Nerven des inneren Gehörorganes nach hinten gedrückt sind, durch dessen Mitte senkrecht zur oberen Felsenbeinkante.

Ein dritter Sägeschnitt läuft diesem parallel hinter dem Sulcus endolymphaticus.

Nun wird das Präparat mit diesen beiden festen Sägeflächen an die Arme des Schraubstockes gelegt und festgeschraubt. Nachdem die vordere untere Wand des äußeren Gehörganges bis nahe zum Trommelfell mit der Knochenscheere abgezwickt ist, trennt ein vierter Sägeschnitt das Dach des äußeren Gehörganges und die Schuppenwurzel ab parallel dem Trommelfell.

Ein fünfter Sägeschnitt kann zur Verkleinerung des Präparates parallel dem Tegmen Tympani unter dem Trommelfell, Paukenboden und Bulbus ven. jugul. geführt werden. Zum Schluß wird der obere Bogengang mit einigen Meißelschlägen eröffnet und an der vorderen oberen Kante des Präparates am inneren Gehörgang ein Dreieck zur Eröffnung der Schnecke eingekerbt.

1389. Die **Fixierung des Gehörorganes** erfolgt für feine histologische Untersuchungen am besten in lebensfrischem Zustand durch Injektion der Blutgefäße. Kolmer empfiehlt dazu besonders das Heldsche Gemisch (gesättigte wässerige Lösung von Kaliumbichromat 2 Teile, 10%iges Formol 2 Teile, Eisessig 1 Teil, vgl. auch § 101). In einzelnen Fällen benützte er auch die in § 1372 angegebene Zusammensetzung. Nach 3—10 Wochen wird in 5%iger Salpetersäure entkalkt, einen Tag in 4%iger Lithiumsulfatlösung und dann gründlich in fließendem Wasser ausgewaschen. Einbettung in Zelloidin. In der Zelloidinlösung bleiben größere Objekte bis zu 8 Wochen.

1390. Um beim Menschen möglichst gut erhaltene Epithelien des Labyrinthes zu bekommen, injiziert Kolmer mit einer Pravatzspritze einen Tropfen einer in Ringerlösung gesättigten Osmiumsäure einerseits durch die Steigbügelplatte, anderseits durch den Meatus acusticus intern.

1391. Gute Resultate gibt ferner die **Wittmaacksche Methode:** Nach Umschneiden des Meatus acusticus internus wird die Dura abgezogen und das Schläfenbein in Kal. bichromat 5 g, dest. Wasser 85 ccm, Formalin 10 ccm, Eisessig 3 ccm gebracht. Man läßt die Flüssigkeit 6—8 Wochen lang bei 37°C ohne Wechseln und ohne Eröffnung des Bogenganges oder der Schnecke einwirken. Dann wäscht man 24 Stunden in fließendem Wasser aus, verkleinert nach Panse (s. § 1388) und legt auf 3—4 Wochen in Formalin 10 ccm, Eisessig 3—5 ccm, dest. Wasser ad 100 ccm ein. Hierauf entkalkt man 10—14 Tage lang in täglich zu erneuernder 10%iger wässeriger Salpetersäure (500 ccm), wäscht 2 Tage in fließendem Wasser aus, bringt in 70%igen Alkohol und eröffnet nun erst Bogengang und Schneckenkapsel. Einbetten in Zelloidin.

Für feine Untersuchungen empfiehlt Wittmaak, die Stücke nach der Behandlung in Formol-Eisessig noch 8 Tage bei 37° C in Kaliumbichrom. 2,5 g, Osmiumsäure 0,5 g, Eisessig 3 ccm, dest. Wasser 100 ccm einzulegen und dann 48 Stunden lang in Formalin 10 ccm, Salpetersäure 3 ccm, dest. Wasser 100 ccm einer Vorentkalkung zu unterziehen. Dann bettet man nach gründlichem Auswaschen in Celloidin ein und entkalkt nachträglich den Celloidinblock in Salpetersäure (vgl. § 848).

Als weitere Fixierungsmethoden seien außer einer mehrwöchigen Fixierung in Müllerscher oder Flemmingscher Flüssigkeit noch folgende Methoden angeführt:

1392. Retzius (84) fixiert die eröffnete Schnecke eine halbe Stunde in 0,5%iger Osmiumsäurelösung und behandelt dann ebensolange mit 0,5%iger Goldchloridlösung. Es wird nicht weiter entkalkt, sondern das Cortische Organ stückweise herauspräpariert und gezupft oder eingebettet und geschnitten.

1393. Nach Ranvier (89) eröffnet man die Schnecke mit einem Skalpell unter einer 2%igen Osmiumsäurelösung (in physiol. Kochsalzlösung), und fixiert darin 12 Stunden. Dann entkalkt man in 2%iger, oft zu wechselnder Chromsäure, was bei einem Meerschweinchen-Gehörorgan etwa 8 Tage dauert.

1394. Katz (07) fixiert das Labyrinth vom Neugeborenen oder frisch getötetem Tier nach Eröffnung des oberen Bogenganges in 30 ccm einer 0,5%igen Osmiumsäure + 5 Tropfen Eisessig. Nach 2 Stunden setzt man 60 ccm einer 0,5%igen Chromsäure (oder Platinchlorid) + 10 Tropfen Eisessig zu. Nach 4 Tagen erneuert man den Eisessigzusatz; nach weiteren 4 Tagen wird für 15 Minuten in fließendem Wasser gespült, auf 12—24 Stunden in Holzessiglösung (1 : 1) eingelegt und sodann in folgender Flüssigkeit entkalkt: Chromsäure 0,5 g, Salpeter- oder Salzsäure 2—5 ccm, dest. Wasser 100 ccm.

Ist das Präparat, wie z. B. bei menschlichem Sektionsmaterial, nicht lebensfrisch, so genügt auch das Orthsche Gemisch und Entkalkung in 10%iger Salpetersäure. Als Konservierungsflüssigkeit, die zugleich entkalkt, gibt Katz an: Salpetersäure 7,5 ccm, Formalin 5 ccm, Wasser 100 ccm. Bei täglicher Erneuerung ist das Felsenbein nach etwa 14 Tagen entkalkt.

1395. Gute Resultate gibt auch die Fixierung in den § 192—194 angegebenen Trichloressigsäuregemischen. Man setzt die Entkalkung nach 24—48stündiger Fixierung in 5%iger Trichloressigsäure fort, bis der Knochen weich ist und wäscht dann in 90%igem Alkohol säurefrei.

1396. Isolationspräparat. Um die Zellelemente des Cortischen Organes zu isolieren, verfährt man am besten nach § 1401.

1397. Zur **Färbung** dienen für Übersichtsbilder die gebräuchlichen Methoden wie Hämalaun-Eosin. Für feinere Strukturen wird man mit großem Vorteil die Heidenhainsche Eisenhämatoxylinfärbung mit Gegenfärbung durch Rubin S, Lichtgrün o. dgl. verwenden. Für Faserstrukturen kommt neben den Bindegewebsmethoden, wie Mallory-

sche, Pasinische Färbung u. dgl., die wegen der vorausgehenden Entkalkung aber oft ungleichmäßig ausfallen, besonders die Methode von Bielschowsky-Maresch (s. § 802ff) in Betracht. Man fixiert in diesem Falle aber besser in Formol, statt in chromhaltigen Flüssigkeiten. Das gleiche gilt bei Anwendung der Bielschowskymethode zur Darstellung der nervösen Elemente (Fixierung in 20%iger Formollösung, Entkalken in 5%iger Salpetersäure, 24stündiges Einlegen in 4%iges Lithiumsulfat, gründliches Auswaschen in fließendem Wasser, nochmals einige Tage in Formol, dann eine Stunde in Wasser und Schneiden auf dem Gefriermikrotom. S. auch Bielschowsky und Brühl [07]).

31. Kapitel. **Die Untersuchung der Nase.**

1398. Bei Fixierung der **Nasenschleimhaut** hat man dafür zu sorgen, daß die Fixierungsflüssigkeit gut zutreten kann und nicht etwa durch zurückgehaltene Luftblasen am Eindringen gehindert wird. Am besten wird man daher die Nasenhöhle von irgend einer Seite her eröffnen. Um Einblick in den Aufbau der Schleimhaut zu bekommen, muß man sowohl Schnitte aus der **regio olfactoria** wie aus der **regio respiratoria** untersuchen. Für reine Übersichtspräparate leisten alle gebräuchlichen Fixierungsflüssigkeiten Gutes. Für die feineren Strukturen wird man mit Vorteil die Flemmingsche Flüssigkeit verwenden. Behandelt man Stückchen aus der regio olfactoria in 1%iger Osmiumsäurelösung, so bekommt man die Olfactoriusfasern geschwärzt. Zur Darstellung der **Becherzellen** der pars respiratoria beachte man die in § 1136 ff. niedergelegten Anweisungen.

1399. Zur **Isolierung der Epithelien** der pars respiratoria verwendet man mit Vorteil den Drittel-Alkohol.

1400. Epithelien der regio olfactoria lassen sich ebenfalls in Drittel-Alkohol mazerieren, die isolierten Sinneszellen aber, die sehr lang sind, verkrümmen sich und werden auch sonst vielfach verändert.

1401. Um diesen Mißständen zu begegnen, empfiehlt Ranvier ein ebenso einfaches als vorzügliches Mittel. Epithelfetzen werden 1—3 Stunden mit Drittel-Alkohol mazeriert und dann 5—15 Minuten mit 1—2%iger Osmiumsäure behandelt. Jetzt kann in Wasser gezupft werden, ohne daß die Zellen ihre Form verändern.

1402. Die Methode von Golgi (s. § 966f.), auf die Schleihaut der regio olfactoria von Foeten oder jungen Tieren angewendet, läßt erkennen, daß die Riechzellen der regio olfactoria peripher gelegene Ganglienzellen sind (Ramon y Cajal 94b).

32. Kapitel. Embryologische Technik.

A. Wirbellose.

1403. Im Frühjahr und Sommer hat man häufig Gelegenheit, Eier, Kokons und Larven verschiedener wirbelloser Tiere, namentlich von Schnecken, in stehenden oder langsam fließenden Gewässern zu sammeln. Während sich die älteren Entwicklungsstadien hauptsächlich nur für spezielle Untersuchungen eignen, geben die frühen Stadien allgemein interessantes Beobachtungsmaterial ab. So läßt sich z. B. an frisch abgelegten Eiern der Tellerschnecke sehr schön das Austreten der Richtungskörper beobachten. Eingehende technische Angaben findet man bei Haecker, Röthig und Buchner, über die Entwicklung der Evertebraten bei Korschelt und Heider.

Zahlreiche praktische Angaben, namentlich hinsichtlich Beschaffung und Pflege des Tiermaterials findet man in den Blättern für Aquarien- und Terrarienkunde.

1404. Ein sehr wertvolles Objekt für das eingehendste Studium der **Befruchtung** wie der Teilungsvorgänge bei der Furchung liefert der im Darm der Pferde (namentlich im Winter) vorkommende Spulwurm, Ascaris megalocephala. Man trifft zwei Varietäten: die eine hat vier, die andere, seltener vorkommende, nur zwei Chromosomen (Boveri). Beim Transport der Würmer aus dem Schlachthof in das Institut hat man nach Möglichkeit eine Abkühlung der Tiere zu vermeiden, da dadurch leicht pathologische Erscheinungen (anormale Teilungsfiguren u. dgl.) hervorgerufen werden können. Man bindet dazu am besten eine die Würmer enthaltende Darmschlinge durch doppelte Ligatur ab oder verpackt sie in warmen Pferdemist. Auch in einer zuerst durch heißes Wasser angewärmten Thermosflasche kann man sie sehr gut transportieren, wenn man die Fixation nicht gleich am Schlachtorte selbst vornehmen kann.

1405. Zur Fixierung der Sexualschläuche steckt man das Tier in einer Wachsschale auf und spaltet den Hautmuskelschlauch vorsichtig von cranial nach caudal. Die in der Leibeshöhle der Tiere vorhandene Flüssigkeit ent-

hält ein flüchtiges Gift, das bei vielen Untersuchern Kopfschmerzen, Entzündung der Schleimhäute, Übligkeit u. dgl. hervorruft. Ist man dafür empfindlich, so arbeite man unter dem Abzug.

1406. Die Fixierung ist gerade bei Ascaris oft sehr launisch. Man bekommt das eine Mal mit der gleichen Fixierungsflüssigkeit ausgezeichnete Bilder, das andere Mal ganz schlechte. Es ist daher ratsam, immer gleich die Geschlechtsröhren mehrerer Tiere zu fixieren. Bald nach dem Eindringen des Sperniums verdickt sich die Eihülle erheblich und setzt dann dem Eindringen der Fixierungsflüssigkeit oft sehr großen Widerstand entgegen. In 30—60%igem Alkohol, in Kaliumbichromat, Müllerscher Flüssigkeit bleiben die Embryonen wochenlang am Leben. Man kann diese Eigenschaft benutzen, um sich alle möglichen Entwicklungsstadien zu verschaffen. Man bindet dazu das untere Ende des Vaginalteiles ab und legt die Eiröhren bei 37°C in eine feuchte Kammer (z. B. eine Petrischale, auf deren Boden sich eine mit physiolog. Kochsalzlösung leicht benetzte Filtrierpapierlage befindet). Die Eier entwickeln sich dann sehr gut weiter. Man muß jedoch vermeiden, daß Wasser auf die Eischläuche tropft, da sie sonst platzen (van Beneden und Neyt u. a.). Man kann die Eischläuche auch in 40 bis 50%igen Alkohol oder 2%ige Kaliumbichromatlösung legen und bei etwa 20° der Weiterentwicklung überlassen. Die fortgeschrittensten Stadien findet man natürlich am weitesten gegen die Geschlechtsöffnung zu.

1407. Die lebenden Eier untersucht man am besten in einem Tropfen der Leibeshöhlenflüssigkeit der Tiere.

1408. Für **Kernstudien** fixiert man am besten in der Carnoyschen Flüssigkeit oder nach Boveri (97): Konz. wässerige Pikrinsäure 33 ccm, dest. Wasser 66 ccm, Eisessig 1 ccm. Nach 24stündiger Fixierung wäscht man bei letzterer Methode mit 70%igem Alkohol (sehr sorgfältig!), färbt 24 Stunden in Grenachers alkoholischem Boraxkarmin, differenziert 24 Stunden in 70%igem Alkohol mit 1% Salzsäure und entsäuert in reinem Alkohol. Bringt man dann die Eiröhren in eine Mischung von 1 Teil Glyzerin und 3 Teilen abs. Alkohol und läßt diese solange stehen, bis der Alkohol verdunstet ist, so erhält man die Eier ohne alle Schrumpfung.

1409. Nach Carnoyscher Fixierung färbt man vorteilhaft mit Eisenhämatoxylin, Methylgrün-Pyronin oder nach Ehrlich-Biondi.

1410. Erlanger (97) fixiert in 96%igem Alkohol 4 Teil und Eisessig 1 Teil.

1411. Kostanecki-Siedlecki fixieren in Sublimat (heiß gesättigt in physiologischer Kochsalzlösung und dann abgekühlt) + 3%ige Salpetersäure zu gleichen Teilen oder in einer Mischung von gleichen Teilen Sublimat, 3%iger Salpetersäure (oder Eisessig) und abs. Alkohol. Nach 24 Stunden Übertragen in 30—70%igen Alkohol, dem man etwas Jodtinktur zusetzt, dann je 24 Stunden in Alkohol von 50, 70, 90, 95 und 100%. Die Einbettung erfolgt nach § 1413.

1412. Abgelegte oder den in Kochsalzlösung belassenen Uteri entnommene Eier schneidet Artom (08), um ein Eindringen der Konservierungsflüssigkeit (z. B. Flemmingsche Lösung) durch die resistente Schale (Perivitellinhülle) zu ermöglichen, mit dem Gefriermikrotom in etwa 30 μ dicke Schichten, so daß die äußersten (widerstandsfähigsten) Schichten der Schalen angeschnitten werden, und fixiert dann.

1413. An den befruchteten Eiern von Ascaris läßt sich in außerordentlich klarer Weise die **Aussaat der Plastosomen des Spermiums im Eiprotoplasma** zeigen. Man zerzupft dazu nach Meves (11) kleine, der Länge nach aufgeschnittene Uterusstückchen, welche geeignete Stadien enthalten, in Altmannscher Flüssigkeit (s. § 537). Nach 24 Stunden fischt man mit einer Pinzette die Fetzen der Schlauchwandung zwischen den Eiern heraus und gießt die Eier mit der Fixierungsflüssigkeit in Zentrifugengläser, läßt sie in diesen sedimentieren und ersetzt die Fixierungsflüssigkeit durch dest. Wasser, das man in den nächsten 24 Stunden mehrmals wechselt. Hierauf werden die Eier durch steigenden Alkohol (in jedem Konzentrationsgrad je 24 Stunden) in Paraffin gebracht. Dazu überführt man sie aus dem abs. Alkohol ganz allmählich (im Laufe von 24 Stunden) in eine Mischung von 3 Volumen Chloroform und 1 Volumen Äther. Dann werden sie mit einem Teil der Chloroform-Äthermischung in Porzellanschälchen ausgeschüttet, die in Glasdosen eingeschlossen werden. Hierzu fügt man nach und nach kleine Paraffinstückchen, bis nach einigen Tagen eine konzentrierte Lösung entstanden ist. Hierauf werden die Schälchen aus den Glasdosen herausgenommen und auf die obere Fläche des Thermostaten gestellt, wo der Zusatz von Paraffin bis zum Eintritt der Sättigung wiederholt wird. Dann kommen die Schälchen im ganzen auf 1½ Stunden in einen auf 40—50° und in einen zweiten auf 58°C erhitzten Wärmeschrank, während welcher Zeit die Mischung von Chloroform-Äther-Paraffin allmählich durch reines Paraffin vom Schmelzpunkt 56° ersetzt wird. Dann

wird ein Teil des Paraffins abgegossen und der Rest mit den Eiern in Gelatinekapseln gefüllt (von etwa 30 mm Länge, 11 mm Durchmesser), die man nochmals in den Thermostaten bringt, bis sich die Eier am Boden gesammelt haben. Zuletzt bringt man die Kapseln in kaltes Wasser und läßt erstarren.

1414. Für die Untersuchung späterer Stadien schneidet Meves (14) die Uteri wie Artom (§ 1412) auf dem Gefriermikrotom (Schnittdicke 60 μ) und bringt die Schnitte in gefrorenem Zustand in die Altmannsche Flüssigkeit. Weiterbehandlung wie oben.

1415. Auch Fixierung in Regaudscher Flüssigkeit gibt für Plastosomen gute Resultate (Romeis 13).

1416. Held (17) färbt die nach Altmann fixierten und in Zelloidin eingebetteten Eizellen mit Molybdän-Hämatoxylin und hierauf mit Säurefuchsin-Pikrinsäure nach Altmann. Es färben sich dabei die »Protoplasma Granula« des Spermiums rot, die der Eizelle schwarz und gelb. (Näheres, soweit eingehendere technische Angaben vorliegen, Arch. f. mikr. Anal. 89. Bd. II. Abt. S. 65—76.)

B. Wirbeltiere.

a) Neunaugen.

1417. Bei Neunaugen, Petromyzon fluviatilis und Planeri gelingt leicht **künstliche Befruchtung;** man preßt dazu bei einem laichreifen Weibchen durch vorsichtiges Streichen die Eier durch den Porus abdominalis heraus in eine trockene Emailleschale. In eine zweite streicht man in gleicher Weise aus geschlechtsreifen Männchen Spermaflüssigkeit, die man dann mittels der Fahne einer Feder auf die in kleine Häufchen verteilten Eier streicht. Dann erst setzt man Wasser zu (Herfort).

1418. An eben befruchteten Petromyzoneiern lassen sich die Befruchtungsvorgänge, die sehr rasch, in wenigen Minuten, ablaufen, deutlich beobachten. Die Eier stellen sich von selbst mit dem animalen Pol in die Sehebene ein. Das Eindringen des Spermiums sieht man von Seiten der Eier mit verschiedenen Protoplasmabewegungen begleitet. (Kupffer und Benecke.)

1419. Das **Schneiden der Eier** ist nicht leicht, da der Dotter häufig Schwierigkeiten verursacht. Zur Fixierung sind Flemmingsche Flüssigkeit (Einwirkung 30 Minuten, Kupffer, Böhm), die vom Rathschen Gemische (s. § 167ff) sowie die Flüssigkeiten von Bouin (§ 163) und Gilson (§ 187)

zu empfehlen. Man bringe die Eier bald ins Paraffin und überziehe die aufgeklebten Paraffinschnitte, um das sehr leicht eintretende Abschwimmen der Präparate zu verhüten, nach § 284 mit einer dünnen Zelloidinschicht.

1420. Neunaugen laichen im Herbst, resp. Frühjahr und sind aus Fischhandlungen in Memel, Danzig, Elbing, Stettin, Kiel und Bremen zu beziehen, Kopsch. Im Frühjahr findet man solche bei Bamberg, Troisdorf, Niederlahnstein, Harburg, Wittenberge, Magdeburg, Rathenow, Crossen und Schwedt a. O., Bromberg. Lubosch hat sein Material aus Jennowitz im Riesengebirge, Mergentheim in Württemberg, Haynau in Schlesien, Tharand, Tauberbischofsheim, bei Königsbronn und Itzelheim in Württemberg und Lockwitz, bei Dresden, Petromyzon Planeri kommt in Mühlengraben vor (aus Lubosch).

b) Fische.

1421. Fischeier sind das ganze Jahr hindurch zu bekommen. Bei den meisten kann man das Oberflächenbild des Keimes bei günstiger Beleuchtung in frischem Zustand sehen und studieren.

1422. Die Laichzeit einiger Fische notieren wir nach dem bayerischen Königskalender (83) und nach H. Stork: Äsche: März, April; Amaul: April, Mai; Barbe: Mai, Juni; Barsch: März, April, Mai; Bartgrundel (Schmerle): März, April; Elritze: Mai, Juni; Felchen: November, Dezember; Forelle: Oktober, November, Dezember; Gareisl (Karausche): Juni; Gründling: Mai, Juni; Hecht: April, Mai; Huchen: April; Karpfen: Mai, Juni; Kaulbarsch: April, Mai; Lachs: September, Oktober, November; (Fluß-) Neunauge: April; Quappe: Januar; Renke: November, Dezember; Rotauge: April, Mai; Saibling: Juni, Oktober, November; Schleie: Mai, Juni; Waller (Wels): Juni, Juli.

1423. Man kann sehr leicht bei den Fischen eine sogenannte **künstliche Befruchtung** der Eier vornehmen. Zur Zeit, wo die Geschlechtsprodukte reif sind, was man daran erkennt, daß beim leichten Streichen der Bauchseite die Geschlechtsprodukte, Eier, resp. Sperma (Milch), ohne weiteres abgegeben werden, bringe man in eine reine Schüssel die Eier eines Rogners durch mehrfaches sanftes Massieren vom Kopf bis zur Analöffnung zum Austritt. Man darf dieses Verfahren nur so lange fortsetzen, bis eine Spur Blut aus der Analöffnung herauskommt. Sodann wird in derselben Weise etwas Sperma gewonnen und dasselbe ohne jeglichen Zusatz mit der Fahne einer Gänsefeder möglichst gleichmäßig auf die Eier verteilt (trockene, soge-

nannte russische Methode). Nun erst wird soviel Wasser zugesetzt, daß die Eier reichlich damit bedeckt sind. Nach einigen Minuten (etwa 10 Minuten) gießt man das mit Milch getrübte Wasser ab und ersetzt es so oft durch frisches, bis keine Trübung mehr wahrzunehmen ist. Die Besamung ist nun vollzogen und man kann die Eier in reinem, fließendem Wasser zur Weiterentwicklung bringen. Am zweckmäßigsten verwendet man dazu eigene Fischbrutröge.

1424. Von Fischzuchtanstalten bezogene befruchtete Forelleneier (die jüngsten Stadien eignen sich nicht zum Versand) können in an die Wasserleitung angeschlossenen Brutrögen aufgezogen und in geeigneten Intervallen untersucht und fixiert werden. Bequem ist hierfür Formalin; werden jedoch die Eier aus diesem in Alkohol übertragen, so müssen sie geschält und die Keimscheiben und Embryonen vom Dotter, der in Alkohol rasch hart wird, abgelöst und weiterbehandelt werden.

1425. Zur Darstellung und zum Studium des Vorganges der **Befruchtung** und der dabei stattfindenden Veränderungen wie Bildung der Richtungskörper, des Eikernes, des Furchungskernes, der Protoplasmastrahlungen usw. eignen sich nach Böhm 81 ganz besondere künstlich befruchtete **Forelleneier,** die leicht zu beschaffen sind und klare Bilder geben. Man fixiert gleich nach der Besamung beginnend, etwa alle 5 Minuten einige Eier in Sublimat-Eisessig (100 : 20).

Noch besser ist folgende Methode: Die Eier kommen zunächst in die oben angegebene Sublimat-Eisessiglösung, in der sich der Keim schon nach weniger als einer halben Minute trübt — also abgetötet ist. Alsdann überträgt man die Eier in eine Sublimatlösung mit geringerem Eisessigzusatz (5%), die man sich natürlich auch durch Zugießen reiner Sublimatlösung herstellen kann.

In beiden Fällen kommen die Eier schon nach 30 bis 45 Minuten in 70%igen Alkohol, dem etwas Jodtinktur zugesetzt ist. Nach etwa 45 Minuten schneidet man mit einem scharf geschliffenen Rasiermesser die die Keimscheibe enthaltende Kuppe des Eies ab, wobei man das Ei vorsichtig mit der linken Hand festhält. Sollen die Keimscheiben in Alkohol aufbewahrt werden, so bringe man sie in keinen höher prozentigen als 80%igen. Besser ist es, die Keimscheiben möglichst rasch in Paraffin einzubetten, da der Dotter durch den Alkohol überaus schwer schneidbar wird. Als Intermedium nimmt man Chloroform, oder

unter Vermeidung des abs. Alkohols Bergamott- oder Zedernöl. Die damit durchtränkten Präparate bringt man zunächst einige Stunden in weiches Paraffin (Sch. p. 35—40°) und dann nur kurze Zeit (15—60 Minuten) in hartes (Sch. p. 56°).

Auch die Zelloidinparaffinmethode kann man mit Vorteil verwenden.

1426. Um den Dotter zu entfernen, empfehlen Virchow-Kopsch zuerst die ganzen Forelleneier mit Chromsäure 2 g, dest. Wasser 900 ccm, Eisessig 100 ccm etwa 10 Minuten vorzubehandeln; für Embryonen mit kleiner werdendem Dotterloch genügen schon 5 Minuten. Dann werden die Eier für 1½ Stunden in 0,2%ige Chromsäurelösung gebracht und möglichst sofort weiterbearbeitet. Dazu überträgt man die einzelnen Eier in physiolog. Kochsalzlösung, eröffnet sie schonend, entfernt die Eihaut und bläst den nicht geronnenen Dotter von der Keimscheibe mit einem mit der erwähnten Kochsalzlösung gefüllten, fein ausgezogenen Röhrchen weg. So vom Dotter gereinigte Keimscheiben fixiert man nun vollends, z. B. mit Sublimat (2 Std.), Flemmingschem Gemisch (sorgfältiges Auswaschen!) usw. Derart behandelte Keimscheiben bieten gute Oberflächenansichten und lassen sich gut in Paraffin schneiden

1427. Boeke J. fixiert mit Sublimat-Eisessig oder mit Zenkerscher Flüssigkeit kurze Zeit und härtet in 10%iger Formollösung nach; nach einigen Stunden überträgt er die Eier in 30%igen Alkohol, um sie weiter mit 40, 50% usw. zu behandeln. Der Dotter der Salmoniden wird sehr hart, der des Gobius capito z. B. dagegen läßt sich in Paraffin gut schneiden.

1428. Als allgemeine Regel muß gelten, dotterhaltiges Fischmaterial so rasch wie möglich einzubetten, da die Dottersubstanz auch in schwachem Alkohol sehr hart und brüchig wird. Liegen die Eier einmal ein paar Jahre in Spiritus, so kann man höchstens noch versuchen, die Keime und Embryonen mit Starnadeln und Skalpellspitzen abzusprengen und isoliert weiterzuschneiden, wobei man aber außer bei großer Übung mit ziemlichem Materialverlust zu rechnen hat.

1429. Ist die sofortige Einbettung nicht möglich, so bewahre man die Keimscheiben in Terpineol oder Zedernöl auf.

c) Amphibien.

1430. Ende März bis Mitte April findet man in Teichen, Pfützen und Bächen Frosch- und Krötenlaich. Die Frösche laichen in Klumpen, die Kröten in Schnüren.

Solche Eier kann man schon frisch der Untersuchung unterwerfen und bei auffallendem Licht beispielsweise die Furchung studieren.

Die **Paarungszeit** ist bei uns: Triton alpestris März bis Mai; T. cristatus April bis Juni; T. taeniatus Mai; Rana esculenta Mai und Anfang Juni; R. temporaria März; Pelobates fuscus Anfang April; Bombinator igneus Mai und Juni; Alytes obstetricans zweimal im Jahre (Frühjahr und Herbst); Bufo vulgaris und variabilis April; B. calamita im Frühjahr, zuletzt unter den Kröten (vgl. darüber auch A. Franke, 81). Salamandra maculosa Frühling bis Sommer.

1431. Bei Rana und Bufo vollziehen sich **die letzten Reifungsvorgänge** unmittelbar vor der Laichabgabe. Nach O. Hertwig und Born (94) schimmert das Keimbläschen bei den Endstadien der Eireifung am dunkelpigmentierten animalen Pol als heller Fleck durch. Der Durchtritt der Eier durch den Eileiter dauert bei Rana nach Röthig 12 Stunden. Bei Bufo erfolgt der Durchtritt ohne Aufenthalt. Bei Bufo cal., Alytes, Bombinator und den Urodelen vollzieht sich die Eireifung nach Carnoy-Lebrun während der Laichzeit. Bei Triton erfolgt dieselbe nach Born (94) schubweise. Warme Witterung scheint die Endreifung des Ovarialeies zu begünstigen. Man muß die Weibchen noch am Tage des Fanges töten, da die Endstadien bei gefangenen Tieren schon nach 24 Stunden verschwinden (Brunstzeit von April—Juni).

1432. Die **künstliche Befruchtung** gelingt am besten bei Fröschen oder Kröten, die in copula gefangen wurden. Will man längere Zeit Material zur Verfügung haben, so trennt man die Pärchen und hält sie an einem kühlen Ort in mit feuchtem Moos gefüllten Körben. Am Tage vor der stattfindenden Befruchtung bringt man Männchen und Weibchen wieder zusammen in ein Gefäß mit etwas Wasser. Zur Vornahme der Befruchtung dekapitiert man zuerst ein Männchen. Bei r. tempor. od. fusca findet man bei brünstigen M. die Samenblasen meist stark gefüllt. Man nimmt sie vorsichtig mit einer Pinzette heraus und entleert den Inhalt in ein mit etwas Wasser gefülltes Schälchen. Bei r. esculenta muß man die Hoden in etwas Wasser bringen und fein zerschneiden und zerzupfen. Dann untersucht man einen Tropfen der Flüssigkeit im Mikroskop und überzeugt sich, daß sich die Spermien bewegen. Hierauf tötet man ein Weibchen, öffnet die Bauchhöhle, entnimmt dem Uterus vorsichtig mit einem Spatel ohne Quetschung die Eier und breitet sie in flacher Schicht auf dem Boden

einer Schale aus und übergießt sie mit der Samenflüssigkeit, die man durch Hin- und Herneigen der Schale über alle Eier hinweglaufen läßt. Nach 10 Minuten gießt man ab und ersetzt durch reines Wasser, das öfters zu erneuern ist. Die die Eier bedeckende Wasserschicht soll, besonders während der ersten Zeit, nicht zu hoch sein.

1433. Über die Vornahme der künstlichen Befruchtung bei Tritonen s. Hertwig (82).

1434. Fixierung. O. Schultze (99) empfiehlt auf Grund jahrelanger Versuche folgende Methode. Man entfernt zunächst mit der Schere die Gallerthülle bis auf die innerste der Dotterhaut aufliegende Gallertschicht und bringt sie für 5 Minuten in eine 2%ige auf 75—80°C erhitzte Formalinlösung (also 2 Teile der käufl. Formalinlösung, 34 bis 36 Teile Wasser). Die Eier sterben momentan ab und die Hüllen heben sich so weit vom Ei ab, daß dieses mit Nadeln leicht aus der Kapsel herausgeholt werden kann. Die Eier nehmen eine elastische, lederähnliche Konsistenz an bei ausgezeichnet erhaltener Oberflächenzeichnung und lassen sich ideal schneiden. Sie lassen sich auch monatelang in der 2%igen Formollösung in den schützenden Hüllen aufheben, ohne dabei ihre guten Eigenschaften zu verlieren. Zur Einbettung überträgt man aus dem Formalin in 70%igen und 95%igen Alkohol, dann in Bergamottöl mindestens je 2 Stunden. Dann je 10 Minuten in einmal gewechseltes Paraffin und Einbetten.

1435. Recht leicht lassen sich die Eihüllen auch nach Fixierung in dem Gilsonschen Sublimatgemisch (s. § 187), das auch gut fixiert, mit Nadel und Scheere entfernen.

1436. O. Hertwig (83) behandelt die Eier mit auf ca. 90° gewärmtem Wasser etwa 5 Minuten. Dann kühlt er die Eier rasch ab, indem er zu dem warmen Wasser kaltes hinzugießt, und schält nun die Eier also: Er faßt die Schleimhülle mit einer Pinzette und schneidet mit einer sehr scharfen Schere dicht am Ei vorbei; es gelingt oft, schon nach dem ersten oder zweiten Schnitt, bei einer gewissen Übung, den Eiraum zu öffnen, und es fällt dann ohne weiteres das Ei heraus. Das so auspräparierte Ei wird nun mit Spiritus von allmählich ansteigender Konzentration weiter behandelt.

1437. Barfurth (93) bringt die Eier für einige Minuten in auf 80° C erwärmte Chromessigsäure und kühlt ab. Nach 24stündigem Auswaschen schüttelt man, wobei sich die Gallerthülle ablöst.

1438. Kallius (08) fixiert in Zenkerscher Flüssigkeit (kein Formolzusatz, sondern Eisessig!), nach dem

2. oder 3. Tag wird gewechselt und dann für 8—14 Tage nicht mehr. Schüttelt man hierauf vorsichtig um, so löst sich die Gallerthülle größtenteils ab. Etwa zurückgebliebene Reste schwimmen meist noch beim Auswaschen weg.

1439. Eine Reihe von Autoren entfernt die Eihüllen nach der Fixierung durch Behandlung mit 10%iger Natriumhypochloritlösung, die mit 5—6 Teilen Wasser verdünnt wurde (Wittmann 44) oder mit aqua Javelli (mit 4 Teilen Wasser verdünnt) (Blochmann 49, Barfurth 93). In einer dieser Lösungen verbleiben die Eier ¼—½ Stunde (mehrmals umschütteln). Die von der Gallertschicht befreiten Eier senken sich zu Boden, werden vorsichtig mit Wasser gewaschen und in steigendem Alkohol übertragen s. auch § 1093.

1440. Von diesen zur Entfernung der Gallerthüllen angegebenen Methoden möchte ich besonders die mechanische Entfernung nach § 1434—1436 empfehlen. Auch Methode 1437 und 1438 leistet gutes, doch leidet besonders bei letzterer infolge der langen Chromierung Schnittfähigkeit und Färbbarkeit. Bei den Methoden mit Natriumhypochlorit kommt es leicht zu Beschädigungen.

Weitere Methoden bei Braus (95) und Ogushi (08).

1441. Ovarialeier und ganze Ovarien fixieren Carnoy und Lebrun 15—60 Minuten in Gilsons Sublimatgemisch (s. § 187), waschen 1 Stunde in Wasser aus, und bringen allmählich in 80%igen Alkohol. Von hier bringt man (kleine Stücke!) kurze Zeit (etwa 15 Minuten) in 96%igen, und für 5 Minuten in abs. Alkohol; aus diesem kommen sie in Alkohol-Chloroform zu gleichen Volumteilen. In letzterer Flüssigkeit senken sich die Objekte zu Boden; man ersetzt dann Alkohol-Chloroform durch reines Chloroform und nach 3—15 Minuten fügt man Paraffin von 52° Schmelzpunkt, bis das Volumen verdoppelt wird, hinzu und stellt das Gefäß in einen auf 37° gewärmten Thermostat. Hier verbleiben die Objekte 2½—3 Stunden und werden nun in reines flüssiges Paraffin von 52° Schmelzpunkt bei möglichst niederer Temperatur auf 5 Minuten gelegt und in demselben Paraffin eingebettet. Die Schneidbarkeit, auch der diffizilsten Objekte, ist eine auffallend gute.

1442. Schneiden. Bei voluminösen Amphibieneier (z. B. Salamandra mac., Axolotl) färbe man im Stück und schneide in weichem Paraffin (Schmelzpunkt 45—50° C) allenfalls unter Kühlung des Blockes. Man benutzt dazu zweckmäßig eine einfache Vorrichtung, deren Kenntnis ich einer Mitteilung Herrn Prof. Keibels verdanke. Dieselbe besteht aus einem großen doppelwandigen Trichter, dessen Inneres mit Eis gefüllt wird. Die Ausflußöffnung wird der-

art über dem Paraffinblock angebracht, daß die eisgekühlte Luft ständig auf den Block herabströmt.

1443. Aufkleben. Das Aufkleben erfolgt am besten nach § 282,3. Hat man das Objekt im Stück gefärbt, so kann man die Schnitte nach Lufttrockenwerden noch mit der Straßerschen Klebemasse (10 Vol. Äther, 10 Vol. Kollodium, 15 Vol. Aloi Ricini) mit einem weichen Pinsel in dünner Schicht überstreichen. Nach Trocknen bringt man in Karbolxylol, reines Xylol und Balsam. Will man im Schnitt färben, so verfahre man bei leicht abschwimmenden Objekten nach § 284.

1444. Färbung. Zur Färbung der **Dotterelemente** empfiehlt Peter (04) bei Amphibien Eisenalauncochenille. Man koche 10 g gepulverte Cochenille mit 250 ccm destilliertem Wasser und dampfe das Dekokt unter stetem Umrühren auf etwa 50 ccm ein. Darauf wird destilliertes Wasser zu 150 ccm aufgefüllt, filtriert und auf je 40 ccm des Filtrats 3 Tropfen konzentrierter Salzsäure zugefügt. Der entstehende feine Niederschlag hat sich in 1—2 Tagen gesenkt und die klare orangerote Flüssigkeit ist gebrauchsfertig. Sie kommt unverdünnt zur Anwendung.

Man färbt die mit Eiweiß aufgeklebten, paraffinbefreiten Schnitte 18—24 Stunden bei 37°, spült mit dest. Wasser ab (kann auch wegbleiben), und übergießt mit einer 1%igen Eisenalaunlösung, die, wenn sie schwarz wird, gewechselt werden soll. Nach ½—2 Minuten abspülen in dest. Wasser und durchführen durch Alkohol und Xylol in Balsam.

1445. Auch Färbung mit Magenta-Pikroindigokarmin nach § 425 oder 426 gibt gute Resultate. Sehr klare Bilder erhält man bei Färbung mit Karmin-Lichtgrün. Bei Färbung mit Lithionkarmin-Pikroblauschwarz (§ 789) treten die Zellgrenzen scharf hervor.

d) Reptilien.

1446. Im Mai, Juni und später trifft man trächtige Eidechsen an, denen man nach geeigneter Tötung die Eier entnehmen kann. Da die Tiere (außer den viviparen) die Eier in ziemlich frühem Stadium ablegen, findet man meistens nur junge Stadien vor.

	Paarung	Gebär-, resp. Legezeit
Lacerta agilis . .	Mai bis Juni	
» muralis .	April	Juli
» vipipara .	Ende April	Mitte Juli

	Paarung	Gebär- resp. Legezeit
Anguis fragilis . .	Mai	August (sogar Oktob.)
Pelias berus . . .	Anfang April bis Mai	Ende August bis Anfang September
Coronella austriaca	Mitte April	Ende August bis Anfang September
Tropidonotus natrix	Mitte Mai	Mitte Juli bis Ende August

(Vgl. darüber auch A. Franke, 81.) Selbstverständlich ist hierbei der Standort, von welchem die Tiere bezogen werden, zu berücksichtigen.

1447. Zur **Aufzucht von Reptilieneier** bringt man nach Röthig die zu verschiedenen Zeiten abgelegten Eier der Ringelnatter in einen weiten Glaszylinder, dessen Boden mit einer Schichte Sägespähne und frischem Pferdemist bedeckt ist. Darauf kommen die zuerst abgelegten Eier. Dann streut man wieder eine Schicht Sägespähne auf, die wieder mit einer Lage Pferdemist bedeckt wird, auf den man dann die jüngeren Eier legt usf. Man erhält so verschiedene Etagen von Eiern, die sich alle gut entwickeln und von denen die untersten die ältesten sind.

1448. Bei der **Öffnung der Eier** verfährt man am besten in der Weise, daß man unter physiologischer Kochsalzlösung die Schalenhaut entfernt. Man faßt dazu die Eischale mit einer spitzen Pinzette derartig, daß sich eine niedrige Falte bildet, die man dann mit einem langen Scheerenschnitt entfernt. (Ist die Öffnung eine sehr kleine geworden, so kommt es zur Bildung eines Extraovats, welches in der Regel mit dem Platzen der Dotterhaut resp. Ausfließen des Dotters [das Ei geht dabei zugrunde] endet.) In der Fortsetzung des Schnittes hebe man abermals eine Falte auf und schneide weiter ringsum, bis das Ei aus der Schalenhaut fällt.

1449. Ist es gelungen, das Ei, ohne es zu verletzen, von den Eihüllen zu befreien, so wird es mit einem passenden Hornlöffel in die Fixierungsflüssigkeit übertragen, und als solche eignet sich Pikrin-Schwefelsäure 5 Stunden oder Sublimat-Eisessig (siehe §§ 78 und 870) 1—1½ Stunden mit nachträglicher Behandlung mit reinem Sublimat oder Sublimat-Chromsäure (siehe § 72) 24 Stunden. Nach dieser Frist werden die Eier in Wasser übertragen und die **Area**

embryonalis, resp. vasculosa, mit einer scharfen, spitzen Schere **umschnitten** und dann mittels eines Hornlöffels in Alkohol übertragen (nach Sublimat: Jodzusatz!)

1450. In späteren Stadien der Entwickelung, nachdem sich die Keimblätter bereits differenziert haben, läßt sich der Keim allein nach der Entfernung der Dotterhaut, welche Operation in späteren Stadien keine Schwierigkeit mehr zu machen pflegt, abheben.

1451. Bei den **jüngeren Stadien** entferne man den fixierten Keim mit einer darunter liegenden Dotterschicht und behandle das Ganze weiter.

1452. Eine (für den Anfänger namentlich) recht bequeme Methode, die übrigens nicht einmal schlechte Resultate gibt, ist die folgende:

Man übertrage die Eier mit Schalen in Pikrin-Schwefelsäure auf 5—6 Stunden oder in Pikrin-Essigsäure (konz. wässerige Pikrinsäure wird mit zwei Teilen Wasser verdünnt und dieser Lösung 1% Eisessig zugesetzt [auf das ganze Volumen berechnet] auf 24 Stunden).

Hierauf überträgt man die Eier in dest. Wasser und entfernt darin die Schalenhaut mit Pinzette und Schere, was mit großer Leichtigkeit geschieht. Die weitere Behandlung nach der Entfernung der Eihaut und dem Herausschneiden des Embryos, resp. Keimes, ist wie die oben angegebene.

1453. Man findet gelegentlich zu Haufen abgelegte **Eidechsen-** und **Schlangeneier**; diese letzteren enthalten stets spätere Entwicklungsstadien, resistentere Embryonen, die schon spiralig gewunden sein können, an denen man Pulsationen des Herzens usw. wahrnimmt.

Die Eier sind gewöhnlich kollabiert, wenn sie etwas eingetrocknet sind, die Ebryonen brauchen aber nicht tot zu sein. In feuchtem Moos oder ähnlichem nehmen sie die ursprüngliche Spannung wieder an.

1454. Junge Reptilieneier (Befruchtung, Furchung, erstere Stadien sind an den dünnen, leicht mit zwei Pinzetten abziehbaren Schalen kenntlich), die man bisweilen im Eileiter findet, fixiere man, wie oben angegeben, nach dem Schälen und übertrage sodann die ganzen Eier in 70%igen Spiritus. Nach 24 Stunden bringe man die Eier in 80%igen Spiritus und schneide nach 2—4 Stunden die Keimscheiben vom Dotter mit dem Rasiermesser ab, indem man die Eier vorsichtig mit den Fingern faßt. Die Keim-

scheiben können dann weiter behandelt, mit Paraffin durchtränkt und geschnitten werden. Stück- und Schnittfärbung.

1455. Eine Methode, welche sehr gute (erprobt an **Blindschleichen** und Eidechsen) Resultate gibt, namentlich in bezug auf die Ausnutzung des Materials, ist folgende: 2—3 Stunden Sublimat-Eisessig (5% von letzterem), dann übertragen in eine gesättigte Pikrinsäure in Wasser 8—12—24 Stunden, es wird in Wasser geschält und ganze Eier oder abgelöste Embryonen, in 70%igen Spiritus übertragen, dann in gewöhnlicher Weise weiterbehandelt. Materialverlust ist bei einiger Übung sehr gering, das Färben mit Boraxkarmin, Hämalaun im Stück gelingt stets, die Konservierung ist tadellos. — Es ist ausdrücklich hervorzuheben, daß sich sehr junge Stadien auf diese Weise ebenfalls behandeln lassen. Oppel (91b und 92).

1456. Röthig (04) fixiert jüngere und ältere Reptilieneier (Blindschleiche, Eidechse, Ophidier) in 1%iger Chromsäure 30, konz. Sublimatlösung 30, Eisessig 3, Formalin 10, Aqu. dest. 27 Vol. 24 Stunden, wäscht ebensolange in fließendem Wasser und schält erst in Alkohol.

e) Vögel.

1457. Das bequemste Material zur Untersuchung von Vogeleiern sind die **Hühnereier,** von denen nur die ersten Furchungsstadien schwer zu bekommen sind, da sich dieselben noch im unteren Teile des Eileiters und im sog. Uterus gleichzeitig mit der Bildung des Eiweißes und der Schalenhäute vollziehen. Beim frisch gelegten Ei sind meist schon die beiden ersten Keimblätter sichtbar. Um frühere Stadien zu bekommen, muß man also die Henne töten. Einzelne Vögel, z. B. Kanarienvögel, legen die Eier nach Rauber (76) jedoch in viel jüngeren Stadien ab. Um die weitere Entwicklung der abgelegten Eier verfolgen zu können, müssen dieselben bebrütet werden. Man legt sie also entweder einer Bruthenne unter oder läßt den Vorgang in einem Brutofen vor sich gehen. Am besten benutzt man dazu die eigens für diesen Zweck gebauten, im Handel erhältlichen **Brutapparate** (z. B. von Sartorius in Göttingen).

1458. Man kann aber auch einen gewöhnlichen Thermostaten dazu benutzen, wenn man den Thermoregulator auf 38—39° C einstellt. 39° C sollen jedoch nicht überschritten werden. Von geringerer Bedeutung ist eine vorübergehende Temperatursenkung. Um das Innere des Brutraumes feucht zu halten, muß man am Boden eine flache Schale mit Wasser aufstellen; andernfalls trocknen die Eier aus. Ferner hat man für Zutritt von frischer Luft zu sorgen, z. B. dadurch,

daß man mehrmals im Tage die Türe öffnet. Die Eier müssen jeden Tag etwas um ihre Längsachse gedreht werden, etwa um 90°. Man macht sich am besten mit dem Bleistift auf eine Seite des Eies ein Kreuz und auf die gegenüber liegende einen Kreis, dann sieht man immer, um wieviel man gedreht hat. Man gewöhne sich immer, nach einer Richtung, z. B. im Sinne des Uhrzeigers zu drehen. Durch zu vieles Drehen können namentlich auf frühen Stadien leicht Mißbildungen z. B. 2—3 Medullarrohre u. dgl.) entstehen. Wichtig ist, die Eier täglich auch etwas abzukühlen. Man bringt sie anfangs 2—5 Minuten, gegen Ende der Bebrütung (15.—21. Tag) ¼—½ Stunde an die Luft (erfolgt bei Brutapparaten am besten durch Herausziehen des Faches).

1459. Bekommt man die Bruteier von auswärts geschickt, so läßt man sie zweckmäßig vor dem Ansetzen 24 Stunden an einem kühlen Ort horizontal ruhig liegen.

1460. Die **Brütezeit** beträgt bei der Taube 17—19 Tage, beim Huhn und der Ente 21 Tage, bei der Gans 29 Tage, beim Pfau 31 Tage.

1461. Auch andere Vogeleier sind bei uns leicht zu beschaffen, z. B. von Tauben, Sperlingen etc. Manche Vogeleier sind infolge der besonderen Zähigkeit des Eiweißes sehr schwer zu behandeln, z. B. Kiebitzeier, eine Eigenschaft, die sie mit Schildkröteneiern teilen.

1462. Lagebestimmung. Nimmt man das Ei, ohne es zu drehen, in horizontaler Lage aus dem Brutschrank, so schwimmt die Keimscheibe oben auf der Oberfläche des Dotters.

Auch die **Lage des kaudalen und kranialen Endes** der Keimscheibe läßt sich mit ziemlicher Sicherheit im voraus bestimmen, wenn man das Ei so vor sich legt, daß der stumpfe Pol nach links, der spitze nach rechts sieht. Die Verbindungslinie beider Pole teilt die Keimscheibe in eine dem Beschauer zugewandte hintere und eine ihm abgewandte vordere Hälfte. Die hintere entspricht dem späteren kaudalen Ende des Embryos, die vordere dem kranialen.

1463. Fixierung. Zur Fixierung des Eies, das man über eine Schale hält, sticht man die spitze Branche einer kräftigen Präparierschere durch die Schale und trägt dann zunächst eine kleine Kalotte der Schale ab. Dann erweitert man die Öffnung immer mehr und mehr, wobei man das überschüssige Eiweiß sorgfältig abfließen läßt. Dabei hat man besonders auf die Chalazen zu achten, und dieselben erst an der einen Seite und dann an der anderen abzuschneiden, indem man sie mit dem Eiweiß durch passendes Neigen und Drehen des Eies zum Ausfließen bringt und

dabei mit der Schere immer wieder durchschneidet, um ein Mitreißen der Dotterkugel und eine Sprengung der Dotterhaut zu vermeiden. Ist das meiste Eiweiß auf diese Weise entfernt, so taucht man den Schalenrest mit der Dotterkugel in eine auf 37°C erwärmte physiolog. Kochsalzlösung, läßt die Dotterkugel herausrollen und entfernt mit einem Pinsel oder einer Pinzette sorgfältig die Reste des Eiweißes in der Region der Keimscheibe. Dann umschneidet man mit einer scharfen Schere den Rand der Keimscheibe (Sinus terminalis). Die Dotterhaut wird, falls sie sich nicht von selbst abgelöst hat, durch sanftes Ziehen mit einer feinen Pinzette entfernt, der Keim in einem Hornlöffelchen aufgefangen und vorsichtig in die Fixierungsflüssigkeit gebracht (s. a. § 736).

Der Anfänger beginnt am besten mit 3—5tägigen Stadien, da die jüngeren schwieriger zu behandeln sind. Vgl. § 1466.

1464. Als **Fixierungsflüssigkeit** kann man für Übersichtspräparate Formalin, Pikrinschwefelsäure, Bouinsche Flüssigkeit, Sublimat-Eisessig u. a. anwenden, für spezielle Untersuchungen seien besonders die Flemmingsche Flüssigkeit (Kern), die Mevessche Modifikation derselben (s. § 536, für Plastosomen) und die Maximowsche Flüssigkeit (§ 736, für Blut) empfohlen. Natürlich lassen sich auch noch andere Flüssigkeiten mit Erfolg anwenden.

1465. Eine gute und besonders auch für Anfänger empfehlenswerte Methode ist, den nach § 1463 freigelegten Eidotter mit möglichst wenig Eiweiß statt in physiologische Kochsalzlösung in eine große Schale mit reichlicher 3—5%iger Salpetersäure (300—500 ccm) zu bringen, da sich in ihr die Dotterhaut besonders leicht entfernen läßt. Man pinselt zuerst das geronnene Eiweiß sorgfältig von der Dotterkugel ab, bis die Dotterhaut freiliegt (wenn sich die Lösung trübt, erneuert man sie vorsichtig). Nach etwa 15 Minuten umschneidet man die Keimscheibe mit einer gebogenen Schere außerhalb des sinus terminalis und löst sie von der Dotteroberfläche. Dann faßt man mit einer feinen Pinzette ein Randstück der Dotterhaut und bringt sie durch sanftes Hin- und Herschwenken zum Abschwimmen. Hierauf kann man die Keimscheibe zur Nachfixierung noch für kurze Zeit (30 Minuten bis 2 Stunden) in Sublimat-Eisessig, Zenkersche Flüssigkeit o. dgl. übertragen.

1466. Fixierung jüngster Stadien: Dieselbe ist am schwierigsten, weil es bei ihr sehr leicht zu einer Zerreißung

der Keimblätter kommt. Man nimmt sie am zweckmäßigsten so vor, daß man die Keimscheibe zunächst in Verbindung mit der Dotteroberfläche läßt; dadurch bleiben auch die Beziehungen zwischen ihr und dem Dotter am besten erhalten. Erst später schneidet man sie mit der darunter liegenden Dotterschicht von Dotterkugel ab. Im einzelnen gestaltet sich der Vorgang folgendermaßen:

a) Methode von Novak: Nach Entfernung des Eiweißes in einer auf 37° erwärmten 0,6%igen Kochsalzlösung zieht man die Flüssigkeit mit einer Pipette ab und substituiert sie durch die Fixierungsflüssigkeit: 0,5% Chromsäure 30 ccm, konzentrierte wässerige Sublimatlösung 30 ccm, Eisessig 3 ccm, destilliertes Wasser 37 ccm. Nach 24 Stunden wechselt man die Flüssigkeit, und nach 48 Stunden ersetzt man sie durch 55% Alkohol. 70%, 85% Alkohol, letzterer mit Zusatz von Jodjodkaliumlösung folgen nach; in letzterem Spiritus zieht man die Dotterhaut ab, was leicht zu geschehen pflegt. — Behandlung wie sonst. —

b) Nach einer anderen Methode bringt man die in warmer physiologischer Kochsalzlösung vom Eiweiß befreite Dotterkugel auf 2 Stunden in Sublimat-Eisessig und überträgt dann in 70%igen Alkohol. Hier wird die Keimscheibe mit der darunter sitzenden Dotterschicht mit einer gebogenen Schere abgeschnitten und in frischen, 70%igen Alkohol übertragen, hierauf Jodalkohol zur Entfernung des Sublimats usw.

Stückfärbung mit Borax-Karmin nach § 337 ist für diese Stadien sehr zu empfehlen.

1467. Größeren Embryonen (2—4 cm Länge) eröffnet man vor der Fixierung Kopf-, Brust- und Bauchhöhle. Bei noch älteren Stadien fixiert man die zu untersuchenden Organe möglichst isoliert.

1468. Für die Schnittfärbung sei, außer der Hämalaun-Eosinfärbung für Übersichtspräparate besonders die Färbung mit Azur-Eosin (s. § 442) oder nach Dominici (§ 440) empfohlen.

1469. Herstellung von Totalpräparaten: Junge durchsichtige Keimscheiben und Embryonen kann man nach der Stückfärbung (s. § 337) zur Übersicht auch als Totalpräparate einschließen. Man bringt sie dazu durch Alkohol und Xylol in Kanadabalsam. Um ein Zerdrücken des Keimes zu vermeiden, muß man jedoch unter das Deckglas entsprechend dicke Schutzleisten unterlegen.

1470. Recht vorteilhaft ist es oft, die gefärbte Keimscheibe usw. nach § 236 oder 2237 in Zelloidin einzubetten

und die Blöcke in Terpineol oder Zedernöl aufzuhellen. Die Form der Objekte läßt sich dann unter dem binokularen Mikroskop oder der Lupe sehr gut studieren. Das Verfahren empfiehlt sich insbesondere auch für Demonstrationszwecke.

1471. Um in den oberflächlichen Lagen der Keimscheibe die **Zellgrenzen** darzustellen, bringt man dieselbe wie in § 1465 in 3—5%ige Salpetersäure, der man auf 100 ccm 5—10 ccm einer 1%igen Silbernitratlösung zusetzt. Weitere Behandlung wie in § 667.

1472. Über die bei der **Isolierung der einzelnen Keimblätter** (»Delamination«) einzuschlagende Technik findet man die besten Angaben bei Drasch (14).

1473. Wie für alles dotterreiche Material, so gilt auch für die frühen Entwicklungsstadien der Vögel das in § 1428 gesagte.

f) Säugetiere.

1474. Für systematische entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an **Säugetieren** verschafft man sich am leichtesten Embryonen von Mäusen, Meerschweinchen oder Kaninchen.

1475. Bei der Maus tritt die **Brunst** nach Sobotta (95) sowohl unmittelbar wie 21 Tage nach dem Wurf ein.

Die Brunstzeit erstreckt sich über den größten Teil des Jahres. Sie beginnt Anfang März und dauert bis Ende November, erlischt aber auch im Dezember, Januar und Februar nicht ganz. Bei nichtbrünstigen Tieren ist die Vaginalöffnung verschlossen. Zur Zeit der Brunst klafft die Vagina, ihre Ränder sind gerötet und oft stark geschwollen. Der Uterus ist dann schlaff, die Hörner gänsefederkieldick, das Lumen mit Flüssigkeit gefüllt. Die um das Ovar liegende Kapsel ist durch klare Flüssigkeit gedehnt. Unmittelbar nach der Begattung findet man in der Vagina einen aus erhärtetem Samenblasensekret bestehenden Pfropf. Der Uterus stellt unmittelbar nach der Begattung zwei prall gefüllte Schläuche dar mit ganz durchsichtiger Wandung. Nach etwa 10 Stunden ist er zur früheren Größe wieder abgeschwollen. Der abdominale Teil der Tube wird bei der Brunst unabhängig von der Kopulation ebenfalls sehr stark gedehnt.

Die **Tragzeit der Maus** beträgt 21, die der **Ratte** 28 Tage.

1476. Auch beim **Meerschweinchen** tritt die Brunst gleich nach dem Wurf ein.

Daß das Weibchen brünstig ist, erkennt man nach Rein (83) an der starken Schwellung und Rötung der Geschlechtsteile.

Ferner ist das Tier aufgeregt und bespringt nach Rein sogar andere Weibchen. Das Verklebtsein oder Nichtverklebtsein der Vagina ist nicht als Anzeichen verwertbar, da man auch bei nichtbrünstigen Weibchen eine offene Vagina antreffen kann. Bei nichtbrünstigen Tieren beobachtet man beim Bespringen Abwehrreflexbewegungen. Die Begattung wird meist 3—4 mal wiederholt.

1477. Die **Tragzeit des Meerschweinchens** beträgt 69 Tage (nach anderen 63). Das Meerschweinchen wirft nach der ersten Schwangerschaft nur 1—2 Junge, bei späteren steigt die Zahl auf 3—5 Tiere. Die Jungen sind nach 8—9 Monaten ausgewachsen. Fortpflanzungsfähig werden sie schon nach 5—6 Monaten, doch ist es besser, sie erst im 7. oder 8. Monat belegen zu lassen. Weiteres über Zucht s. Stepper, Rationelle Meerschweinchenzucht, Berlin, 18.

1478. Beim **Kaninchen** tritt die Brunst ebenfalls gleich nach dem Wurf ein, hält aber dann ca. 14 Tage lang an.

Zu anderen Zeiten erkennt man die Brunst daran, daß das Tier unruhig ist, lebhaft umherspringt und Heu und Stroh umherträgt, ohne es zu fressen. Will man decken, dann bringe man die Häsin zum Rammler, nicht umgekehrt. Man läßt sie dann einige Male bespringen. Nach dem Koitus fällt das Männchen gewöhnlich für einige Augenblicke auf die Seite. Um zu sehen, ob das Tier angenommen hat, bringt man es nach 8 Tagen wieder zum Rammler; verhält sich die Häsin dann abweisend, so ist das ein Zeichen dafür, daß es trächtig ist. Gegen Ende der Schwangerschaft rauft sich das Weibchen Haare zum Nestbau aus.

1479. Die **Tragzeit** beträgt 28—30 Tage. Gut gefütterte Tiere werfen 8—9 Junge, auch mehr. Das Geschlecht ist nach 7—8 Wochen äußerlich feststellbar. Mit 4 Monaten trennt man sie am besten nach Geschlechtern. Vom 6. Monat an kann man sie belegen.

(Wertvolle Angaben über die Zucht, mit deren Kenntnis es bei Wissenschaftlern meist schlecht bestellt ist, findet man bei Schuhmann A., Das Kaninchen; Kosmos, Stuttgart und Bungartz J., Kaninchen-Rassen, Magdeburg.)

1480. Brunstzeiten anderer Tiere.: Hund: Februar und August: Katze: März. Schaf: vom März an den Sommer hindurch.; Schwein: April und September s. ferner Tabelle bei Hesse-Doflein 14. 2. Bd. 5487.

1481. Schwangerschaftsdauer: Hund: 63—65 Tage; Katze: 56—59 Tage; Schaf: 154 Tage; Schwein: 120 Tage; Reh: 7—8 Monate; Kuh: 9—10 Monate; Pferd: 11—12 Monate.

Aufsuchen und Fixieren der jüngsten Entwicklungsstadien.

1482. Das Eindringen des Spermiums in das Ei findet bei der Maus nach Sobotta 5—10 Stunden post coitum statt. Vorkerne trifft man nach 18—22 Stunden, das 1. Furchungsstadium nach 26, das 2. nach 50, 8 Blastomeren nach 60, 16 nach 72 Stunden an. Nach etwa 80 Stunden gelangt das Ei in den Uterus, in dem es während des 4. und 5. Tages keine besondere Orientierung zeigt. Nach dieser Zeit bettet es sich gewöhnlich so in der dem Mesometrium gegenüberliegenden Seite ein, daß man bei gut orientierten Querschnitten durch den Uterus Längsschnitte durch den Embryo bekommt.

1483. Am meisten Übung und Sorgfalt erfordert das **Aufsuchen** und Fixieren **der noch nicht angehefteten Eier.** Man präpariert den trächtigen Uterus mit Mesometrium, Tuben und Ovarien aus dem getöteten Tier und steckt ihn in körperwarmer phys. Kochsalz- oder Ringerlösung in einer mit Wachs ausgegossenen Schale auf. Dann schneidet man sie vorsichtig der Länge nach auf, steckt die auseinandergebreitete Schleimhaut fest und sucht die Oberfläche derselben sorgfältig mit einer Lupe ab. (Sehr vorteilhaft ist dabei der Gebrauch einer binokularen Fernrohrlupe.) Aufgefundene Eier saugt man mit einer weiten Pipette vorsichtig auf und überträgt sie in die Fixierungsflüssigkeit.

1484. Sind die Eileiter sehr dünn, wie z. B. bei der Maus oder der Fledermaus, so kann das Aufschneiden der Tuben unter Umständen Schwierigkeiten verursachen. Man präpariert dann den Eileiter durch Abtrennen des Mesometriums frei, wodurch das vielfach gekrümmte Rohr gestreckt wird. Dann spritzt man das Lumen vom uterinen Ende her mit etwas physiol. Kochsalzlösung oder besser Ringerlösung (auf 37° C erwärmt) aus (4 mal je 1 ccm in 4 kleine Schälchen von nicht mehr als 4 cm Durchmesser). Meist findet man die Eier beim Durchsuchen mit schwacher Vergrößerung in den ersten Schälchen auf. behandelt man auf diese Weise die Tube eines Kaninchens, das am 2. Tage nach der Begattung getötet wurde, so erhält man nach O. Schultze (97) sehr leicht die ersten Furchungsstadien. In gleicher Weise kann man durch Ausspülen der Uterushöhle die noch nicht angehefteten Uterineier bekommen (beim Meerschweinchen und Kaninchen z. B. 4—5 Tage nach der Befruchtung).

1485. Die **isolierten Eier** müssen, um Schrumpfungen zu vermeiden, sehr sorgfältig fixiert und weiterbehandelt werden (Fixierungsfl.: Zenkersche oder Flemmingsche Flüssigkeit). Da die Keimblase sehr leicht schrumpft, so empfiehlt es sich, den Embryonalschild mit einer scharfen, spitzen Schere sofort nach der Trübung in der Fixierungsflüssigkeit zu umschneiden;

1486. Zur Gewinnung von Schnittpräparaten fixiert man die befruchteten Eier enthaltenden Tuben in Flemmingscher (schwache Lösung, § 126), Zenkerscher, Bouinscher oder Carnoyscher Flüssigkeit und schneidet in Serien. Dabei ist die Orientierung der Schnittrichtung bei den ersten Entwicklungsstadien allerdings mehr oder weniger dem Zufall anheimgegeben.

Behandlung älterer Entwicklungsstadien.

1487. Leichter ist die Bearbeitung der bereits im Uterus angehefteten Stadien. Die kleinen fixiert man bei kleinen Tieren, wie Mäusen, Meerschweinchen, auch Kaninchen, in toto mit dem Uterus wie in § 1486 und schneidet dann senkrecht zur Längsachse des Uterus. Die Lage der Embryonen ist an den entsprechenden Anschwellungen des Uterus leicht festzustellen. Macht die Muskularis beim Schneiden nach Paraffindurchtränkung Schwierigkeiten, so entfernt man sie nach der Einbettung mit einem scharfen Skalpell.

1488. Noch ältere Stadien präpariert man besser aus dem Uterus heraus. Bei 10—15 tägigen Meerschweinchenembryonen spannt man dazu den Uterus mit Nadeln auf, schneidet die Muskularis an der dem Mesometrium entgegengesetzten Seite longitudinal an und durchtrennt vorsichtig die weiche Dezidualschicht unter physiologischer Kochsalzlösung oder der fixierenden Flüssigkeit ebenfalls mit einem longitudinal verlaufenden Schnitt; dann tritt der Zapfen mit dem Embryo unverletzt hervor, kann ohne weiteres herausgehoben und fixiert werden.

1489. O. Schultze findet es praktisch, die Eröffnung der Fruchtkapseln nicht sofort nach dem Tode vorzunehmen, sondern die durch Querschnitte des Uterus isolierten Kapseln zuerst für $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde in Flemmingsche Lösung, starke Mischung, einzulegen. Hierdurch wird die Fruchtkapsel schnell oberflächlich gehärtet und kollabiert nicht mehr beim Aufschneiden, so daß es leichter ist, die Embryonalanlage von den Eihäuten zu lösen und in die Fixierungsflüssigkeit zu übertragen.

1490. Größere Embryonen entnimmt man den Eihäuten und öffnet vor der Fixierung die größeren Körperhöhlen oder fixiert nur die für die betreffende Untersuchung in Betracht kommenden Organe.

1491. Sehr geeignetes Material geben auch **Schaf- und Schweineembryonen** ab, die man sich auf den verschiedensten Entwicklungsstadien aus den Schlachthäusern verschafft. Man fixiere sie aber unmittelbar nach dem Schlachten, da sie sich rasch verändern und unbrauchbar werden.

1492. Als **Fixierungsflüssigkeit für ganze Embryonen** usw. eignet sich besonders Formol (1:4) und noch mehr Formol-Alkohol (1 Teil Formol + 4 Teile 80—90%igen Alkohols). In beiden kann man das Material ohne Schaden längere Zeit liegen lassen. Die Flüssigkeiten dringen gut ein und liefern für Übersichtsbilder gute Resultate. Sehr empfehlenswert ist auch das Bouinsche Gemisch. Für spezielle Zwecke hat man natürlich die jeweils in Frage kommenden, in den einzelnen Spezialkapiteln angegebenen Flüssigkeiten zu wählen.

1493. Zur **Färbung** empfehlen sich im allgemeinen Stückfärbungen mit Hämalaun oder Karmin (vergl. § 337 und § 344); weniger haltbar, im Färbe-Resultat aber in vieler Hinsicht besser sind die Färbungen nach **Dominici** (§ 440) und mit **Azur-Eosin** (§ 442). Nach Karminfärbung nehme man zur Kontrastfärbung Pikrinsäure oder besser Bleu de Lyon oder Lichtgrün. Bei Befruchtungsstadien erzielt man durch die Doppelfärbung mit Boraxkarmin (im Stück)—Hämalaun (im Schnitt) oft gute Ergebnisse. Bei mit Flemmingscher Lösung fixierten Objekten färbe man mit Safranin (§ 392 und § 528) oder mit dem Heidenhainschen Eisenhämatoxilin, das beinahe nach allen Fixierungen sehr schöne Resultate erzielen läßt.

Literaturverzeichnis.

Die hinter dem Autornamen stehende, fettgedruckte Zahl bezeichnet das Jahr, in welchem die betreffende Arbeit erschienen ist.

Abkürzungen im Literaturverzeichnis.

A. Anat. Entw. = Archiv für Anatomie und Physiologie. Anatomische Abteilung.
A. d'Anat. Micr. = Archives d'Anatomie Microscopique.
A. Derm. Syph. = Archiv f. Dermatologie und Syphilis.
A. Entw. Mech. = Archiv für Entwicklungs-Mechanik.
A. exp. Path. Pharm. = Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie.
A. Gynaek. = Archiv für Gynaekologie.
A. ital. Biol. = Archives italiennes de Biologie,
A. m. A. = Archiv für mikroskopische Anatomie.
A. Ophth. = Archiv für Ophthalmologie.
A. Zellf. = Archiv für Zellforschung.
Amer. Journ. Anat. = American Journal of Anatomy.
An. An. = Anatomischer Anzeiger.
Anat. H. = Anatomische Hefte.
Anat. Rec. = Anatomical Record.
Ber. d. d. bot. Ges. = Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft.
Ber. Ges. Morph. Phys. Münch. = Berichte der Gesellschaft für Morphologie und Physiologie in München.
Berl. Klin. Woch. = Berliner Klinische Wochenschrift.
Bibl. anat. = Bibliographie anatomique.
Biol. Zbl. = Biologisches Zentralblatt.
C. R. Acad. Sc. = Comptes rendus de l'académie des sciences.
C. R. Soc. Biol. = Comptes rendus de la société de biologie.
D. A. klin. Med. = Deutsches Archiv für klinische Medizin.
D. med. Woch. = Deutsche medizinische Wochenschrift.
Derm. Woch. = Dermatologische Wochenschrift.
Enz. mikr. Tech. = Enzyklopädie der mikroskopischen Technik.
Erg. Anat. Entw. = Ergebnisse der Anatomie und Entwicklungsgeschichte.
Fol. haem. = Folia haematologica.
Folia neur. = Folia neurologica.
Frankf. Z. Path. = Frankfurter Zeitschrift für Pathologie.
Jen. Z. Nat. = Jenaer Zeitschrift für Naturwissenschaften.
Int. Mon. Anat. Phys. = Internationale Monatsschrift für Anatomie und Physiologie.
Journ. anat. phys. = Journal de l'anatomie et de la physiologie.
Journ. exp. Med. = Journal of experimental Medicine.
Journ. Path. Bakt. = Journal of Pathology and Bakteriology.
Mon. prakt. Derm. = Monatsschrift für praktische Dermatologie.
Mon. zool. ital. = Monitore zoologico italiano.
Münch. med. Woch. = Münchner medizinische Wochenschrift.
Neur. Zbl. = Neurologisches Zentralblatt.
Pflüg. A. = Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie.
Verh. Anat. Ges. = Verhandlungen der anatomischen Gesellschaft.

Verh. D. path. Ges. = Verhandlungen der deutschen pathologischen Gesellschaft.
Verh. Phys.-med. G. Würzb. = Verhandlungen der physikalisch-medizinischen Gesellschaft in Würzburg.
Virch. A. = Virchows Archiv für pathologische Anatomie, Physiologie und klinische Medizin.
Wien. klin. W. = Wiener klinische Wochenschrift.
Z. Biol. = Zeitschrift für Biologie.
Z. ges. exp. Med. = Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin.
Z. phys. Chem. = Zeitschrift für physiologische Chemie.
Z. w. M. = Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und für mikroskopische Technik.
Z. w. Zool. = Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie.
Zbl. Path. = Zentralblatt für allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie.
Zbl. Phys. = Zentralblatt für Physiologie.
Ziegl. B. = Zieglers Beiträge zur allgemeinen Pathologie und pathologischen Anatomie.
Zool. An. = Zoologischer Anzeiger.

Abbe, E., **78.** Über Blutkörper-Zählung. Sitzungsber. d. Jen. Ges. f. Med. u. Naturw.

Abderhalden, E., **14.** Lehrbuch der physiologischen Chemie. Bd. 1 u. 2. 3. Aufl. Berlin-Wien.

Achard, C. et **Aynaud,** M., **06.** Sur le rôle du chlorure de sodium dans l'imprégnation hist. par l'argent. C. R. Acad. Sc. Paris.

—, —, **06.** Sur l'imprégnation histologique par les précipités colorés. C. R. Acad. Sc. Paris.

Achúcarro, N., **11.** Nuevo método para el e studio de la neuroglia y del tejido conjuntivo. Bol. Soc. Españ. Biol. Madrid 1. 139—141.

Agduhr, E., **17.** Über Stückfärbung mit Bielschowskys Silberimprägnationsperiode. Einige Modifikationen. Z. w. M. Bd. 34, 1—99.

Alexander, G., **05.** Die Anatomie der Taubstummheit. Wiesbaden.

Alfieri, 97. Un nuovo metodo per la depigmentazione dei tessuti. Monit. Zool. Ital. Bd. 8.

Altmann, R., **79.** Über die Verwertbarkeit der Korrosion in der mikroskopischen Anatomie. A. m. A. 16., p. 471 bis 507, T. 21—23.

—, **92.** Ein Beitrag zur Granulalehre. Verh. Anat. Ges. 6. Vers. p. 220—223.

—, **94.** Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen. p. 1—160, 9 Fig. und 35 T. 2. Aufl. Leipzig.

Alzheimer. Beitrag zur Kenntnis der pathologischen Glia und ihrer Beziehungen zu den Abbauprodukten im Nervengewebe. Histolog. u. histopatholog. Arbeiten, herausgeg. von Nißl u. Alzheimer, Bd. 3.

Ambronn, H., **92.** Anleitung zur Benutzung des Polarisations-Mikroskops bei histologischen Untersuchungen. Leipzig.

Anitschkow, N., **07.** Über die Anwendung des Acetons in der histol. Technik. Petersburg.

Anitschkow, N., **10a.** Über eine einfachste Methode zur Anfertigung von Zelloidinschnittserien. Z. w. M. 27, p. 67—70.
—, **10b.** Über die Methoden zur Aufklebung von Gefrierschnitten etc. Z. w. M. Bd. 27.
Apáthy von, S., **87.** Methode zur Verfertigung längerer Schnittserien mit Zelloidin. Mitteil. Zool. Stat. Neapel. 7. Bd.
—, **88.** Nachträge zur Zelloidintechnik. Z. w. M. Bd. 5.
—, **89.** Mikrotechnische Mitteilungen. Z. w. M. 6. Bd.
—, **92.** Z. w. M. Bd. 9. p. 37. Anm.
—, **96** und **01.** Die Mikrotechnik der tierischen Morphologie, 1. Abteilung. Braunschweig. 2. Abteilung. Leipzig.
—, **97.** Ein neuer Messerhalter mit Nachtrag. Z w. M. 14. Bd.
—, **97a.** Das leitende Element des Nervensystems. Mitt. zool. Stat. Neapel. 12. Bd.
—, **98.** Über die Bedeutung des Messerhalters in der Mikrotomie. Ertesitö, 19. Bd.
—, **10.** Vortrag auf dem Wiener physiologischen Kongreß über Fixierbarkeit und Färbbarkeit als Zeichen der Veränderung des physiologischen Zustandes.
—, **12.** Neuere Beiträge zur Schneidetechnik. Z. w. M. Bd. 29, 449—515.
Arima, H., **18.** Über die paradoxe Speichelsekretion bei chronischer Atropinvergiftung. A. exp. Path. Pharm. Bd. 83, p. 1—116.
Arnold, J., **96.** Zur Technik der Blutuntersuchung. Zbl. Path. Bd. 7.
—, **11.** Über feinere Strukturen und die Anordnungen des Glykogens im Magen und Darmkanal. A. m. A. Bd. 77. 1911.
—, **14.** Über Plasmastrukturen und ihre funktionelle Bedeutung. Jena.
Artom, C., **08.** Über ein Verfahren, die beschalten Eier von Ascaris meg. mit jedem gewünschten Konservierungsmittel zu fixieren. Z. w. M. Bd. 25, p. 3—7.
Asai, T., **14.** Beiträge zur Histologie und Histogenese der quergestreiften Muskulatur der Säugetiere. A. m. A. Bd. 86 I, p. 8—68.
Aschner, B., **18.** Die Blutdrüsenerkrankungen des Weibes. Wiesbaden.
Asschoff, 13. Ein Beitrag zur Lehre von den Makrophagen. Verh. path. Ges., 16. Tag. Marburg.
— und **Kiyono, 13.** Zur Frage der großen Mononukleären. Fol. haem. 15.
Aßmann, G., **06.** Über eine neue Methode der Blut- und Gewebsfärbung mit dem eosinsauren Methylenblau. Münch. m. W.
Attias, G., **12.** Die Nerven der Hornhaut des Menschen. A. Ophth. Bd. 83, p. 207—316.
Baeyer, H. v., **08.** Über Fremdkörper im Organismus. Beitr. klin. Chir. Bd. 58, p. 1—120.

Ballowitz, E., 88. Untersuchungen über die Struktur der Spermatozoen. A. m. A. Bd. 32.
—, **00.** Über das Epithel der membrana elastica posterior der Hornhaut. A. m. A. Bd. 56.
—, **03 u. 10.** Artikel »Embryologische Technik« in der Encyklopädie der mikroskop. Technik. 1903. 2. Aufl. 1910.
—, **13.** Artikel »Sperma« im Handwörterbuch der Naturwissenschaften. Bd. 9, S. 251—280.
—, **13a.** Notiz über das Vorkommen alkoholbeständiger, karminroter und braunroter Farbstoffe in der Haut von Knochenfischen. Z. phys. Chem. Bd. 86, p. 215—218.
—, **13b.** Über Erythrophoren besonderer Art in der Haut von Knochenfischen. A. m. A. Bd. 82, p. 206—219.
—, **14.** Die chromatischen Organe, Melaniridosomen in der Haut der Barsche. Z. w. Zool. Bd. 110, p. 1—35.
—, **14a.** Über die Pigmentströmung in den Farbstoffzellen. Pflüg. A. Bd. 157, p. 165—210.
Bang, J., und Sjövall, E., 16. Studien über Chondriosomen unter normalen und pathologischen Bedingungen. Ziegl. Beitr. Bd. 62, p. 1—70.
Barfurth, D., 93. Die experimentelle Untersuchung über die Regeneration der Keimblätter bei den Amphibien. Anat. H. 1. Abt., H. 9. (3. Bd., H. 2.)
Barlow, R., 95. Mitteilungen über Reduktion der Überosmiumsäure durch das Pigment der menschlichen Haut. Bibliotheca medica. Abt. D^{II}, Heft 5.
Bartel, J., 04. Zur Technik der Gliafärbung. Z. w. M. Bd. 21. — An. An. Ergänzungsheft zu Bd. 19.
Bartels, P., 09. Das Lymphgefäßsystem. G. Fischer, Jena.
Bayerischer Königskalender, 83. Gebr. Reichel in Augsburg.
Bechholdt, 12. Die Kolloide in Biologie und Medizin. Dresden.
Behr, C., 15. Beiträge zur Anatomie und Physiologie des gliösen Gewebes im Sehnerven. A. Ophth. Bd. 89, p. 1—28.
Behrens, W., Kossel, A., Schiefferdecker, P., 89. Das Mikroskop und die Methoden der mikr. Untersuchung. Braunschweig.
Beintker, E., 15/16. Über Farbstoffe in Tablettenform für mikroskopische Zwecke. Mikrokosmos Bd. 9, p. 303—305.
Bell, E. T., 11. Ciaccio's method for the demonstration of lipoids. Journ. med. Research Bd. 24, p. 539—546.
Benda, C., 00. Eine makro- und mikrochemische Reaktion der Fettgewebsnekrose. Virch. A. Bd. 161, p. 194—198.
—, **00.** Erfahrungen über Neurogliafärbungen und eine neue Färbungsmethode. Neurolog. Zbl. 19. Jahrgang.
—, **01.** Die Mitochondriafärbung und andere Methoden zur Untersuchung der Zellsubstanzen. Verh. Anat Ges.
—, **03.** Die Mitochondrien. Erg. Anat. Entw. Bd. 12.
Beneke, 93. Über eine Modifikation der Weigertschen Fibrinfärbung. Ergänzungsh. z. 8. Jahrg. d. An. An. u. Zbl. Path. Bd. 4.

Berg, W., **03.** Beiträge zur Theorie der Fixation mit besonderer Berücksichtigung des Zellkernes und seiner Eiweißkörper. A. m. A. Bd. 62.
—, **07.** Die Veränderungen des Volumens und Gewichtes des Gewebes bei der histologischen Fixation, dem Auswassern, der Härtung und der Paraffineinbettung. An. An. Bd. 31, p. 252—267.
—, **08.** Die Fehlergröße bei den histologischen Methoden. Berlin.
—, **12.** Über spezifische, in den Leberzellen nach Eiweißfütterung auftretende Gebilde. An. An. Bd. 42, p. 251—262.
Berkley, H. J., **93.** Studies in the Histology of the Liver. An. An. Bd. 8, p. 769—792. 22 Fig.
Berner, O., **10.** Firma R. Jungs Apparat zum Walzen von Wachsplatten. Z. w. M. Bd. 27, p. 44—47.
Best, F., **01, 06.** Verhandl. deutsch.-pathol. Ges. Bd. 4, p. 108, Ziegl. Beitr. 1901, Bd. 33, p. 585 und Z. w. M. Bd. 23, p. 319, 1906.
Bethe, A., **95.** Angaben über ein neues Verfahren der Methylenblaufixation. A. m. A. Bd. 44.
—, **96.** Eine neue Methode der Methylenblaufixation. An. An. Bd. 12, p. 438—446.
—, **00.** Das Molybdänverfahren zur Darstellung der Neurofibrillen und Golginetze im Zentralnervensystem. Z. w. M. Bd. 17.
—, **03a.** Allgemeine Anatomie und Physiologie des Nervensystems. Leipzig.
Bethe, A., **03b.** Artikel: »Nervenfasern und -Zellen« in der Enzyklopädie der mikroskop. Technik.
—, **05.** Die Einwirkung von Säuren und Alkalien auf die Färbung etc. Hofmeisters Beiträge Bd. 6.
Biedermann, W., **98.** Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung. Pflug. A. Bd. 72, p. 105—162.
—, **04.** Die Schillerfarben der Insekten und Vögel. Festschr. f. Haeckel. Jena.
Bielschowsky, Max, **04.** Die Silberimprägnation der Neurofibrillen. Journal f. Psychologie und Neurologie. Bd. 3.
—, **05.** Die Darstellung der Achsenzylinder peripherischer Nervenfasern etc. Ibid. Bd. 4.
—, **09.** Eine Modifikation meines Silberimprägnationsverfahrens zur Darstellung der Neurofibrillen. Journ. Psychol. u. Neurol. Bd. 12, p. 135—137.
—, M. u. **Brühl,** G., **07.** Über die nervösen Endorgane im häutigen Labyrinth der Säugetiere. A. m. A. Bd. 71, p. 22—57.
—, M. und **Pollack,** B., **04.** Zur Kenntnis der Innervation des Säugetierauges. Neurol. Zbl. Bd. 23.
Björkenheim, E. A., **07.** Zur Kenntnis der Schleimhaut im Uterovaginalkanal des Weibes in den verschiedenen Altersperioden. Anat. H., 105. Heft.

Björkenheim, E. A., **13.** Golgis Apparato reticolare interno in den Plazentarepithelien. A. Gynäk. Bd. 100, p. 446—453.
Biondi, G., **13.** La degenerazione Walleriana dei nervi periferici, particolaremente studiata dal lato istichimico ed il valore degli attuali metodi d'indagine per la dimostrazione istochimica di sostanze grasse e lipoidi. Fol. neurobiol. Bd. 7, p. 71—119.
Bloch, B., **17.** Das Problem der Pigmentbildung in der Haut. A. Derm. Syph. Bd. 124, p. 129—208.
—, **17.** Chem. Untersuchungen über das spez. pigmentbildende Ferment der Haut, die Dopa-oxydare. Z. phys. Chem. Bd. 98.
—, und **Löffler,** W., **17.** Untersuchungen über die Bronzefärbung der Haut bei der Addisonschen Krankheit. D. A. klin. Med. Bd. 121, p. 262—291.
— und **Ryhiner,** P., **17.** Histochemische Studien in überlebendem Gewebe über fermentative Oxydation und Pigmentbildung. Z. ges. exp. Med. Bd. 5, p. 179—240.
Blochmann, F., **89.** Eine einfache Methode zur Entfernung der Gallerte und Eischale bei Froscheiern. Zool. A.
Blum, F., **93.** Der Formaldehyd als Härtungsmittel. (Vorl. Mitt.) Z. w. M. Bd. 10.
—, **96.** Über Wesen u. Wert der Formolhärtung. An. An. Bd. 11.
—, **10.** Artikel Formaldehyd in der Enzykl. mikr. Techn. 2. Aufl.
Böhm, A. A., **91.** Die Befruchtung des Forelleneies. Ber. Ges. Morph. Phys. Münch.
Böhm, A. A., und **v. Davidoff,** M., **95** und **03.** Lehrbuch der Histologie des Menschen einschließlich der mikroskopischen Technik. 246 Abbild., XV, 404 pp. Wiesbaden **1895**; 3. Aufl. 278 Abbild., XIV, 417 pp. Wiesbaden **1903.**
Böhm, A. A., und **Oppel,** A., **12.** Taschenbuch der mikroskopischen Technik. 7. Aufl. München.
Böhmer, F., **65.** Zur pathologischen Anatomie der Meningitis cerebromedullaris epidemica. Ärztl. Intelligenzbl. f. Bayern. 12. Jgg.
Boeke, J., **03.** Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Teleostier. Petrus Camper. II. Bd.
—, **09.** Die motorische Endplatte bei den höheren Vertebraten, ihre Entwicklung, Form und Zusammenhang mit der Muskelfaser. An. An. Bd. 35.
Bonney, Viktor, **06.** Eine neue und leicht ausführbare dreifache Färbung für Zellen und Schnitte. Virch. A. Bd. 185.
—, **08.** Eine neue und sehr schnelle Dreifachfärbung. Virch. A. Bd. 193, p. 547—549.
Born, G., **83.** Die Plattenmodelliermethode. A. m. A. Bd. 22
—, **88.** Noch einmal die Plattenmodelliermethode. Z. w. M. Bd. 5.
—, **94.** Die Struktur des Keimbläschens im Ovarialei von Triton taeniatus. A. m. A. Bd. 43, p. 1—78.

Born, G., und **Peter,** K., **98.** Zur Herstellung von Richtebenen und Richtlinien. Z. w. M. Bd. 15.

Botezat, 12. Die Apparate des Gefühlssinnes der nackten und behaarten Säugetierhaut mit Berücksichtigung des Menschen. An. An. Bd. 42, p. 193—250, 273—318.

Boveri, Th., **87.** Zellen-Studien, Heft 1, Jena.

Braus, H., **96.** Untersuchungen zur vergleichenden Histologie der Leber der Wirbeltiere. Semons Zool. Forschungsreisen Bd. 2.

—, **95.** Über Zellteilung und Wachstum des Tritoneies. Jen. Z. Naturw. Bd. 29, 443—511.

Bremer, L., **82.** Über die Endigungen der markhaltigen und marklosen Nerven im quergestreiften Muskel. A. m. A. Bd. 21.

Brodersen, 15. Beobachtungen an der Ossifikationsgrenze des Knorpels II. Die Färbung frischen Knorpels mit Toluidinblau. An. An. Bd. 47, p. 577—595.

—, **16.** Verhalten der Knorpelzellen des Frosches gegen Aqua dest., Natronlauge, Salzsäure und Kochsalz in fließenden Lösungen. An. An. Bd. 49, p. 226—253.

Browicz, 00. Über die Einwirkung des Formalins auf das in den Geweben vorfindbare Hämoglobin. Virch. Arch. Bd. 166.

Brunk, A., **05.** Über die Acetonanwendung zur Paraffineinbettung, besonders zu einer einfachen Schnelleinbettungsmethode. Münch. Med. Wochenschr.

Buchner, P., **15.** Praktikum der Zellenlehre. I. Bornträger, Berlin.

Bürker, K., **03.** Eine einfache Methode zur Gewinnung von Blutplättchen. Z. Physiol. Bd. 17.

Bütschli, O., **92.** Untersuchungen über mikroskopische Schäume und das Protoplasma. 234 p., 23 Fig., 6 Taf. Atlas von 19 Mikrophotographien. Leipzig.

Bungartz, J. Kaninchen-Rassen. Magdeburg.

Burchardt, E., **97.** Bichromate und Zellkern. La Cellule Bd. 12.

Burrows, M. T., **12.** A method of furnishing a contiuous supply of new medium to a tissue culture in vitro. Anat. Rec. Bd. 6.

Buzzi, 96. Mon.-Schr. Prakt. Derm. Bd. 23.

Cajal Ramon y, S., **94a.** Die Retina der Wirbeltiere. Untersuchungen mit der Golgi-Cajalschen Chromsilbermethode und der Ehrlichschen Methylenblaufärbung. Übersetzt von R. Greeff. Wiesbaden.

—, **94b.** Les nouvelles idées sur la structure du système nerveux chez l'homme et chez vertébrés. Paris.

—, **97.** Manual de histologia normal y técnica micrográfica. Valencia.

—, **03.** Méthode nouvelle pour la coloration des neurofibrilles C. r. Soc. Biol. Paris. Bd. 55.

—, **04.** Über einige Methoden der Silberimprägnierung zur Untersuchung der Neurofibrillen, der Achsenzylinder und der Endverzweigungen. Z. w. M. Bd. 20.

Cajal Ramon y, S., **04.** Trois modifications des usages différents de ma méthode de coloration des neurofibrilles par l'argent réduit. C. r. Soc. Biol. Paris. Bd. 56.
—, **04.** Das Neurofibrillennetz der Retina. Int. Mon. Anat. Physiol. Bd. 21.
—. **04.** La méthode à l'argent reduit associée à la méthode embryonnaire pour l'étude de noyaux moteurs et sensitifs. Bibliographie anat. Bd. 13.
—, **05.** Une méthode simple pour la coloration élective du reticulum protoplasmatique et ses résultats dans les divers centres nerveux. Bibliogr. Anat. Bd. 14.
—, **07.** L'apparreil réticulaire etc. Trav. laborat. recherch. biol. Univ. Madrid. Bd. 5, p. 151—154.
—, **08.** Les conduits de Golgi-Holmgren etc. Trav. labor. rech. biol. Univ. Madrid. Bd. 6, p. 123—135.
—, **12.** Fórmula de fijación para la demonstración fácil del aparato reticular de Golgi. Trab. Labor. Invert. Biol. Univ. Madrid Bd. 10, p. 209—220 (Ref. in Z. w. M. Bd. 30, p. 255).
Carazzi, D., **09.** Zur Bleichtechnik. Z. w. M. Bd. 26, p. 526 ff.
—, **09.** Über die Abkühlung des Paraffins. Z. w. M. Bd. 26, p. 530—532.
Carlini, V., **12.** Über den Bau und die Entwicklung der Zonula Zinnii. A. Ophth. Bd. 82, p. 75—149.
Carnoy, J. B. et **Lebrun,** H., **97.** La vesicule germinative et les globules polaires. La Cellule, Bd. 12.
Carrel, A., **11.** Die Kultur der Gewebe außerhalb des Organismus. Berl. Klin. Woch. p. 1364—1367.
—, A., **12.** Neue Methoden zum Studium des Weiterlebens von Geweben in vitro. In Abderhaldens Handb. biochem. Arbeitsmeth. Bd. 6, p. 519—528.
—, A. and **Burrows,** M. T., **11.** On the physico chemical regulation of the growth of tissues. The effects of the dilution of the medium on the growth of the spleen. Journ. Exp. Med. Bd. 13, p. 562—570.
—, —, **11.** An addition to the technique of the cultivation of tissues in vitro. Journ. exper. Medic. Bd. 14, p. 244—247.
—. —, **12.** Die Technik der Gewebskultur in vitro. In Abderhaldens Handb. der bioch. Arbeitsmethoden Bd. V, 2, p. 836 bis 842.
Cesaris-Demel, A., **09.** Über die morphologische Struktur etc. der Leukocyten auf Grund etc. der Vitalfärbung des Blutes. Virch. A. Bd. 195, p. 1—93.
Champy, Ch., **11.** Recherches sur l'absorption intestinale et le rôle des mitochondries dans l'absorption et la sécrétion. A. d'Anat. Micr. Bd. 13, p. 55—170.
Chrzonszczewsky, N., **66.** Zur Anat. u. Physiol. d. Leber. Virch. A. Bd. 35.
Ciaccio, C., **10.** Contributo alla conoscenza dei lipoidi cellulari. An. An. Bd. 35, p. 17—31.

Coca, A. F., **06.** Die Bedeutung der »Fibroglia«-Fibrillen. Virch. A. Bd. 186, p. 297—306, 1906.
Cohnheim, 67a. Über die Endigungen der sensiblen Nerven in der Hornhaut. Virch. A. Bd. 34, p. 606—622, T. 14.
—, J., **67b.** Über Entzündung und Eiterung. Virch. A. Bd. 40, p. 1—79.
Cohnstein, W., **96.** Physiol. Permeabilität tierischer Membranen. Naturw. Rundschau, Jahrg. XI, Nr. 42.
Colombo, G., **03.** Di un methodo per tingere »intra vitam« i granuli protoplasmatici degli elementi cellulari della cornea e per fissare la colorazione ottenuta. Z. w. M. Bd. 20, p. 282—288.
Corning, H. K., **00.** Über die Methode von P. Kronthal zur Färbung des Nervensystems. An. An. Bd. 17, p. 108—111.
Corti, A. et **Ferrata,** A., **06.** Sur une inversion totale de l'affinité colorante avec le changement de liquide fixateur. Monit. zool. ital. ann. 16.
Cowdry, E. V., **13.** The relation of mitochondria and other cytoplasmic constituens in spinal cells of the pigeon. Int. Mon. Anat. Physiol. Bd. 29, p. 473—501.
—, **13.** The development of the cytoplasmic constituens of the nerve cells of the chick. Amer. Journ. Anat. Bd. 15, p. 389 bis 430.
—, **14.** The vital staining of mitochondria with janus green and diethylsafranin in human blood cells. Int. Mon. Anat. Physiol. Bd. 31, p. 267—286.
Cox, W. H., **91.** Imprägnation des zentralen Nervensystems mit Quecksilbersalzen. A. m. A. Bd. 37, p. 16—21, T. 2.
—, **98.** Der feinere Bau der Spinalganglienzelle des Kaninchens. Anat. H., 31. Heft, p. 37—104, Taf. 1—6.
Cullen, Th. S., **95.** Zbl. Path. Bd. 6, p. 448.
Curtis, F., **05.** Méthode de coloration élective du tissu conjonctif. C. R. Soc. Biol., Paris.
—, **07.** Comment faut-il inclure à la paraffine des pièces en tissu conjonctif? Echo med. du Nord.
Czapski, S., **93.** Theorie der optischen Instrumente nach Abbe. Breslau, E. Trewendt.
Czokor, J., **80.** Die Cochenille-Karminlösung. A. m. A. Bd. 18.
Daddi, L., **96.** Nouvelle méthode pour colorer la graisse dans les tissus. Arch. ital. Biol. Bd. 26, p. 142—146.
Da Fano, C., **08.** Über die feinen Strukturveränderungen der motorischen Kernzellen etc. Ziegl. Beitr. Bd. 44, p. 495 bis 525.
Dantschakoff, Wera, **08.** Zur Herstellung der Celloidinserien. Z. w. M. Bd. 25, p. 32—37.
Debeyre, A., **12.** Sur la diversité de forme des Chondriosomes dans les glandes salivaires. Bibliogr. anat. Bd. 22, p. 240 bis 251.
Deetjen, H., **04.** Die Einwirkung verschiedener Ionen auf die Zellsubstanz. Berl. klin. Woch. Bd. 41.

Deetjen, H., **06.** Teilungen der Leukozyten des Menschen außerhalb des Körpers. Bewegungen der Lymphocyten. Arch. Anat. Physiol., physiol. Abt.

Deineka, D., **12.** Der Netzapparat von Golgi in einigen Epithel- und Bindegewebszellen während der Ruhe und Teilung. An. An. Bd. 41, p. 289—309.

—, **14.** Beobachtungen über die Entwicklung des Knochengewebes mittels der Versilberungsmethode I. An. An. Bd. 46, p. 97—126.

Dietrich, A., **08.** Naphtholblausynthese und Lipoidfärbung. Zbl. Path. Bd. 19.

—, **10.** Zur Differentialdiagnose der Fettsubstanzen. Verh. D. Path. Ges. 263.

Dippel, L., **82** und **98.** Das Mikroskop und seine Anwendung, I. Teil. Handb. d. allgemeinen Mikroskopie. 2. Aufl. Braunschweig 1882; II. Teil, 2. Aufl., 1898.

Dogiel, A. S., **90.** Methylenblautinktion der motorischen Nervenendigungen in den Muskeln der Amphibien und Reptilien. A. m. A. Bd. 35.

—, **10.** Artikel »Methylenblau zur Nervenfärbung« in der Encyklopädie der mikroskop. Technik, 2. Aufl.

—, **13.** Die Anordnung und Funktion der Nervenzellen des Herzens des Menschen und der Tiere und ihre Verbindungen mit den sympathischen, den cerebralen und spinalen Nerven. Pflüg. A. Bd. 155, p. 351—390.

Doinikow, B., **11.** Beiträge zur Histologie und Histopathologie der peripheren Nerven. Histol. und path. Arbeiten über Großhirnrinde Bd. 4, p. 445—630.

Donaggio. Riv. speriment. di Freniatria s. bei Biondi (15) Neurol. Zbl. Bd. 34, 178—184.

Doyon, M., et **Policard,** A., **12.** Modification de la cellule hépatique sous l'influence de la congélation. C. r. Soc. Biol. Bd. 72, p. 95.

Drasch, O., **14.** Über die Herstellung von Delaminationspräparaten von Hühnerkeimscheiben. Z. w. M. Bd. 31, p. 193 bis 201.

Dreser, 86. Zur Chemie der Netzhautstäbchen. Z. Biol. Bd. 22.

Dubreuil. De chondriome et le dispositif de l'activité sécrétoire aux differents stades du dévéloppement des éléments de la lignée connective. A. d'Anal. micr. Bd. 15. 58—151.

Dürck, H., **07.** Über eine neue Art der Fasern im Bindegewebe und in der Blutgefäßwand. Virch. A. Bd. 189.

Duval, M., **78.** Précis de technique microscopique et histologique. Paris.

—, **79.** Journ. anat. physiol. T. 15, p. 185.

Ebner, V. v., **75.** Über den feineren Bau der Knochensubstanz. Sitz.-Ber. Akad. Wien, Bd. 72, 3. Abt., p. 1—90, T. 1—4.

—, **82.** Untersuchungen über die Ursachen der Anisotropie organisierter Substanzen. Leipzig.

Ebner, V. v., **91.** Histologie der Zähne mit Einschluß der Histogenese. In: Handb. Zahnheilk. von J. Scheff jr., Bd. 1. Wien.
—, **99.** Über die Wand der kapillaren Milzvenen. An. An. Bd. 15.
—, **05.** Über die histologische Veränderung des Zahnschmelzes während der Erhärtung, insbesondere beim Menschen. A. m. A. Bd. 67.
—, **06.** Diskussion in den Verhandl. d. Anatomischen Gesellschaft zu Rostock.
Edinger, L., **13.** Ersatz des Kanadabalsams durch Gelatine an mikroskopischen Präparaten. Neurol. Zbl. Bd. 32, p. 927 bis 928.
—, **14.** Ersatz des Kanadabalsams durch Gelatine an mikroskopischen Präparaten. Münchn. Med. Woch. 61, Nr. 1.
Ehrlich, P., **76.** Beiträge zur Kenntnis der Anilinfärbungen und ihrer Verwendung in der mikroskopischen Technik. A. m. A. Bd. 13.
—, **85.** Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Eine farbenanalytische Studie. Berlin.
—, **86.** (Hämatoxylinlösung.) Z. w. M. Bd. 3, p. 150.
—, **91.** Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes. I. Teil. (Enthält gesammelte Abhandlungen von ihm und Arbeiten seiner Schüler Westphal, Spilling, Schwarze.)
—, **93.** Über Neutralrot. Allg. med. Zentralzeitung, 04.
—, **06.** Experimentelle Carcinomstudien an Mäusen. Arb. Inst. exper. Ther. Frankfurt a. M.
Ehrmann und **Fick, 05.** Einführung in die mikroskopische Technik der normalen und kranken Haut. Wien.
Ellenberger, W., **06.** Beiträge zur Frage des Vorkommens, des anat. Verhältnisses und der physiol. Bedeutung des Caecums, des Processus vermiformis und des cytoplastischen Gewebes in der Darmschleimhaut. Arch. Anat. Physiol.
Encyklopädie der mikroskopischen Technik, **03.** Herausgeg. von P. Ehrlich, R. Krause, Max Mosse, H. Rosin und Karl Weigert. Berlin und Wien. **10,** 2. Aufl.
Eppinger, H., **02.** Beiträge zur normalen und pathologischen Histologie der menschlichen Gallenkapillaren. Ziegl. Beitr. Bd. 31.
Erlanger, R. v., **97.** Über die Befruchtung und die erste Teilung des Ascariseies. A. m. A. Bd. 49.
Ewald, A., **90.** Zur Histologie und Chemie der elastischen Fasern und des Bindegewebes. Z. Biol. Bd. 26.
—, **97.** Beiträge zur histologischen Technik. Z. Biol. N. F. Bd. 16, p. 246—267 (auf S. 254 dieser Arbeit lies Dr. Mays statt Dr. Mags).
Ewald, A., und **Kühne,** W., **74.** Die Verdauung als histologische Methode. Verh. Naturhist. Ver. Heidelberg (N. F.) Bd. 1, p. 451—456.

Fairchild, D. G., **96.** A perforated porcelain cylinder as washing apparatus. Z. w. M. Bd. 12, p. 301.

Falk, Fr., **67.** Histologie verwesender Organe. Zentralblatt für med. Wiss.

Falkenberg, K., **04.** Über die Hämosiderin-Reaktion der Leber nach Anwendung der verschiedenen Härtungsflüssigkeiten. Zbl. Path. Bd. 15, p. 662.

Farkas, B., **13.** Bemerkungen über die Abkühlung des Paraffins. Z. w. M. Bd. 30, p. 168—174.

Faworski, A., **06.** Ein Beitrag zum Bau des Bulbus olfactorius. Journ. Psych. Neurol. Bd. 6.

Fedorow, V., **13.** Einige praktische Angaben zur Rekonstruktionstechnik. Z. w. M. Bd. 30, p. 178—181.

chera, G., **04.** Contribution expérimentale à l'étude de la physio-pathologie de la muqueuse gastrique. Arch. ital. Biol. Bd. 42.

ck, J., **02.** Über metachromatische Färbung des Keratohyalins durch Cresylechtviolett. Zbl. Path. Bd. 13.

Fieandt, v. H., **10.** Eine neue Methode zur Darstellung des Gliagewebes etc. A. m. A. Bd. 76, p. 125—209.

Fischel, A., **08a.** Über eine vitale und spezifische Nervenfärbung. Z. w. M. Bd. 25, p. 154—157.

—, **08b.** Untersuchungen über vitale Färbung etc. Leipzig.

—, **10.** Vitale Färbung. Encykl. mikr. Technik. 2. Aufl., p. 589—601.

Fischel, Richard, **05.** Technik der Kromayerschen Epithelfaserfärbung. Zbl. Path. Bd. 16.

Fischer, A., **93.** Zur Kritik der Fixierungsmethoden und der Granula. An. An. Bd. 9.

—, **99.** Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena, G. Fischer.

Fischer, B., **02.** Über die Fettfärbung mit Sudan III und Scharlach R. Zbl. Path. Bd. 13.

Fischer, E., **75.** Eosin als Tinktionsmittel für mikroskopische Präparate. A. m. A. Bd. 12.

—, **76.** Über die Endigungen der Nerven im quergestreiften Muskel der Wirbeltiere. A. m. A. Bd. 13.

—, **04.** Über die Unterscheidung von Neutralfetten, Fettsäuren und Seifen im Gewebe. Zbl. Path. Bd. 15, p. 913.

Flechsig, P., **76.** Die Leitungsbahnen im Gehirn und Rückenmark des Menschen. Leipzig.

Fleischl, E., **74.** Über die Beschaffenheit d. Achsenzylinders. Beitr. Anat. Phys. Festgabe f. K. Ludwig, p. 51—55. Leipzig.

Flemming, W., **68.** Über den Ciliarmuskel der Haussäugetiere. A. m. A. Bd. 4.

—, **82.** Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. p. VIII und 1 bis 424. 24 Fig. und 8 Taf. Leipzig.

—, **86.** Surrogate f. Knochenschliffe. Z. w. M. Bd. 3.

Flemming, W., **89a.** Über die Löslichkeit osmierten Fettes und Myelins in Terpentinöl. Z. w. M. Bd. 6, p. 39—40.
—, **89b.** Weiteres über die Entfärbung osmierten Fettes in Terpentin und anderen Substanzen. Z. w. M., p. 178—181.
—, **91a.** Über Teilung und Kernformen bei Leukozyten etc. A. m. A. Bd. 37, p. 249—298.
—, **91b.** Neue Beiträge zur Kenntnis der Zelle. A. m. A. Bd. 37, p. 685—751.
—, **95a.** Über die Wirkung von Chromosmiumessigsäure auf Zellkerne. A. m. A. Bd. 45.
—, **95b.** Über den Bau der Spinalganglien bei Säugetieren etc. A. m. A. Bd. 46.
Flesch, M., **80.** Untersuchungen über die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels, p. 1—102, 5 T. Würzburg.
Flint, Joseph M., **02.** A new Method for the Demonstration of the Frame Work of organs. Johns Hopkins Hospital Bulletin, 13. Vol.
Fol, H., **84** u. **96.** Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie mit Einschluß der vergleichenden Histologie und Histogenie. p. 1—452, 220 Fig. Leipzig.
Forel, A., **77.** Untersuchungen über die Haubenregion und ihre oberen Verknüpfungen im Gehirne des Menschen und einiger Säugetiere mit Beiträgen zu den Methoden der Gehirnuntersuchung. Arch. f. Psychiatrie u. Nervenkr. Bd. 7.
Foster und Balfour, übersetzt von **Kleinenberg,** N., **76.** Grundzüge der Entwickelungsgeschichte der Tiere. Leipzig.
Franke, Ad., **81.** Die Reptilien und Amphibien Deutschlands. Leipzig.
Fraenkel, E., **03.** Über eine neue Markscheidenfärbung. Neurol. Zbl.
Frederiksen, A. M., **17.** Der Zusammenhang zwischen Mitochondrien und Bindegewebsfibrillen. An. An. Bd. 50, p. 393—400.
Friedberger, E., **16.** Färbung mikroskopischer Präparate mit Farbstiften. Münchn. med. Woch. 63, 1675—1676.
Friedenthal, H. und **Poll,** H., **08.** Über Fixationsgemische mit Trichloressigsäure und Uranylazetat. Sitzber. Ges. naturf. Freunde zu Berlin 1907.
Friedländer, 82. Mikroskopische Technik. Berlin.
Frisch, B. v., **15.** Zum feineren Bau der Membrana propria der Harnkanälchen. An. An. Bd. 48, p. 284—296.
Fromann, C, **64a.** Über Färbung der Binde- und Nervensubstanz des Rückenmarkes durch arg. nitr. und über die Struktur der Nervenzellen. Virch. A. Bd. 31.
—, **64b.** Zur Silberfärb. d. Achsenzylinder. Virch. A. Bd. 31.
Froriep, A., **78.** Über das Sarkolemm und die Muskelkerne. A. Anat. Physiol. Anat. Abt.
Fuchs, R. F., **14.** Der Farbenwechsel und die chromatische Hautfunktion der Tiere. Handb. vgl. Physiol. v. Winterstein, Bd. III, 1. Hälfte, 2. Teil. Jena.

Furno, R., **11.** Beiträge zur Kenntnis der vergleichenden Hämatologie der Spezialleukozyten-Granulationen einiger Laboratoriumssäugetiere. Fol. haem. Bd. 11, p. 219—252.
Gad, J. (Methode von Chr. Sihler), **95.** Über eine leichte und sichere Methode, die Nervenendigung an Muskelfasern und Gefäßen nachzuweisen. A. Anat. Physiol. physiol. Abt.
Gaidukow, N., **10.** Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroskopie in der Biologie und in der Medizin. Jena 845.
Garten, S., **04.** Leitfaden der Mikroskopie. 2. Aufl. Leipzig.
Gaskell, J. F., **12/13.** A method of cutting frozen sections by embedding in gelatin. Journ. Path. Bact. London. 17.
Gebhardt, W., **97.** Mikrostereogramme bei starker Vergrößerung. Photograph. Rundschau.
—, **98a.** Ein Träger für Kulturschalen etc. Z. w. M. Bd. 15, p. 155.
—, **98b.** Über rationelle Verwendung der Dunkelfeldbeleuchtung. Z. w. M. Bd. 15, p. 289—299.
—, **99a.** Die mikrophotographische Aufnahme gefärbter Präparate. Internat. Photogr. Monatsschr. f. Med.
—, **99b.** Das Auerlicht in der Mikrophotographie etc. Photograph. Rundschau, Jahrg. 13, p. 43—53.
—, **00.** Über den funktionellen Bau einiger Zähne. A. Entw. Mech. Bd. 10.
—, **07.** Über neue leicht sichtbare Mikrometerteilungen. Z. w. M. Bd. 24, p. 366.
Gelei, J., **13.** Über die Ovogenese von Dendrocoelum lacteum. A. Zellf. Bd. 11, p. 51—150.
Gerlach, J., **71, 72.** Von dem Rückenmark. Strickers Handbuch der Lehre von den Geweben. p. 665—693, Fig. 217—229. Leipzig.
Giemsa, G., **09.** Über die Färbung von Feuchtpräparaten mit meiner Azur-Eosinmethode. D. med. Woch. Jahrg. 35,p. 1751 f.
—, **10a.** Über die Färbung von Schnitten mittels Azur-Eosin. D. med. Woch. Jahrg. 36, p. 550—551.
—, **10b.** Über eine neue Schnellfärbung mit meiner Azur-Eosinlösung. Münch. med. Woch. 1910, p. 2476.
—, **11.** Fixierung und Färbung der Protozoen. Im Handb. d. pathog. Protoz. Leipzig. Bd. 1, p. 6—40.
Goetsch, Wilh., **06.** Über den Einfluß von Karcinommetastasen auf das Knochengewebe. Ziegl. Beitr. Bd. 39.
Gött, Th., **06.** Die Speichelkörperchen. Int. Mon. Anat. Physiol. Bd. 23.
Goldmann, E., **09.** Die äußere und innere Sekretion. Beitr. z. klin. Chir. Bd. 64, p. 192—265.
—, **12.** Neue Untersuchungen über die äußere und innere Sekretion des gesunden und kranken Organismus im Lichte der vitalen Färbung. Tübingen.
Goldscheider, 86. Demonstration von Präparaten, betreffend die Endigung der Temperatur- und Drucknerven in der menschlichen Haut. A. Anat. Physiol., physiol. Abt.

Goldschmidt, R., **17.** Versuche zur Spermatogenese in vitro. A. Zellf. Bd. 14, p. 421—450.

Golgi. C., **94.** Untersuch. über den feineren Bau des zentr. und periph. Nervensystems. p. 1—272, 30 Taf. Jena. (Enthält sämtl. Untersuch. Golgis über obiges Thema seit 1871.)

—, 08. Une méthode pour la prompte et facile démonstration de l'appareil réticulaire interne des cellules nerveuses. Arch. ital. biol. T. 49, p. 269—274.

Golodetz, L., **14.** Die Darstellung der Reduktions- und Sauerstofforte der Gewebe. Z. w. M. Bd. 31, p. 300—306.

Golowin, E., 02. Sur le fixage du Neutralrot. Z. w. M. Bd. 19, p. 176—185.

Gottlieb, B., **14.** Die vitale Färbung der kalkhaltigen Gewebe. An. An. Bd. 46, p. 179—194.

Grabower, 02. Über Nervenendigungen im menschlichen Muskel. A. m. A. Bd. 60, p. 1—16.

Gräff, S., **16.** Eine Anweisung zur Herstellung von Dauerpräparaten bei Anwendnng der Naphtholblau-Oxydasereaktion mit einigen Bemerkungen zur Theorie und Technik der Reaktion. Zbl. Path. Bd. 27, p. 313—318.

—, 16. Gelatineeinbettung für Gefrierschnitte. Münch. Med. Woch. 63, p. 1482—1483.

Grandis und **Mainani, 00.** Sur une réaction colorée, qui permet de révéler les sels de calcium déposés dans les tissus organiques. Arch. ital. Biol. Bd. 34, p. 73—78.

Greef, R., **01.** Anleitung zur mikr. Untersuch. des Auges. 2. Aufl.

Grenacher, A., **79.** Einige Notizen zur Tinktionstechnik, besonders zur Kernfärbung. A. m. A. Bd. 16, p. 463—471.

Greschik, E., **15.** Über den Bau der Milz einiger Vögel mit besonderer Berücksichtigung der Schweigger-Seidelschen Kapillarhülsen. Aquila Bd. 22, p. 111—159.

—, 16. Zur Histologie der Vogelhaut. Die Haut des Kernbeißers und Haussperlings. Aquila Bd. 22, p. 59—110.

Griesmann, B., **13.** Über die fibrilläre Struktur des Sarkolemms. Int. Mon. Anat. Physiol. Bd. 29, p. 268—272.

Groß, R., **16.** Beobachtungen und Versuche an lebenden Zellkernen. A. Zellf. Bd. 14, p. 279—354.

Grosser, O., **00.** Injektion mit Eiweißtusche. Z. w. M. Bd. 17.

Häcker, V., **99.** Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre. 137 Abb., 260 p. G. Fischer, Jena.

Hällsten, 86. Ein Kompressorium für mikroskopische Zwecke. Zeitschr. f. Biologie Bd. 22.

Haff, R., **14.** Bindegewebs- und Blutbildungsprozesse in der embryonalen Leber des Huhnes. A. m. A. Bd. 84 I, p. 321 bis 350.

Hamburger, H. J., **08.** Injektionen mit Eiweiß- und Serumtusche zu mikroskopischen Zwecken. Z. w. M. Bd. 25, p. 1—3.

Hammar, F. A., **10.** 50 Jahre Thymusforschung. Erg. Anat. Entw. Bd. 19.

Hammarsten, 14. Lehrbuch der physiol. Chemie. 8. Aufl. Wiesbaden.

Hammer, Bernh., **91.** Über das Verhalten von Kernteilungsfiguren in der menschlichen Leiche. Dissert. Berlin. 39 p.

Hansen, Fr. C. C., **95.** Eine schnelle Methode zur Herstellung des Böhmerschen Hämatoxylins. Zool. Anz. Nr. 473.

—, **98a.** Eine zuverlässige Bindegewebsfärbung. An. An. Bd. 15, p. 151—153.

—, **98b.** Über die Genese einiger Bindegewebsgrundsubstanzen. An. An. Bd. 16, p. 417—438.

—. **05.** Untersuchungen über die Gruppe der Bindesubstanzen. I. Der Hyalinknorpel. Anat. H. Bd. 27.

—. **07.** Om Efterfixering af Formolpraeparater Hospitalstidende.

—, **08.** Über die Ursachen der metachromatischen Färbung bei gewissen basischen Farbstoffen. 1. Abschn. Z. w. M. Bd. 25, p. 145—153.

Hári, P., **01.** Modifizierte Hoyersche Schleimfärbung mittels Thionin. A. m. A. Bd. 58.

Harrison, R. G., **08.** Embryonic transplantation and development of the nervous system. Anat. Rec. Bd. 2, p. 385—410.

—. **10.** The outgrowth of the nerve fibre as a mode of protoplasmic movement. Journ. Exp. Zool. Bd. 9, p. 787.

Haug, R., **91.** Die gebräuchlichsten Entkalkungsmethoden. Eine technisch-histologische Studie. Z. w. M. Bd. 8.

Hauschild, W., **14.** Zellstruktur und Sekretion in den Orbitaldrüsen der Nager. Anat. Hefte Bd. 50, p. 533—629.

Heidenhain, M., **92.** Über Kern und Protoplasma. Festschr. für Kölliker. Leipzig. p. 109—166, Taf. 9—11.

—, **94.** Neue Untersuchungen über die Zentralkörper und ihre Beziehungen zum Kern- und Zellprotoplasma. A. m. A. Bd. 43, p. 423—758, T. 25—31.

—, **96.** Noch einmal über die Darstellung der Zentralkörper durch Eisenhämatoxylin nebst einigen allgemeinen Bemerkungen über die Hämatoxylinfarben. Z. w. M. Bd. 13, p. 186—199.

—. **01.** Über eine Paraffineinbettung mit Schwefelkohlenstoff als Durchgangsmedium. Z. w. M. Bd. 18, p. 166—170.

—, **02.** Über chemische Umsetzungen zwischen Eiweißkörpern und Anilinfarben. Pflüg. A. Bd. 90.

—. **03.** Artikel »Färbungen«. Encyklop. mikr. Technik.

—, **03a.** Über die Verwertung der Zentrifuge bei Gelegenheit der Herstellung von Präparaten isolierter Zellen zu Kurszwecken. Z. w. M. Bd. 20.

—. **03b.** Über die zweckmäßige Verwendung des Kongo und anderer Amidoazokörper, sowie über neue Neutralfarben. Z. w. M. Bd. 20, p. 179—186.

—, **03c.** Neue Versuche über die chemischen Umsetzungen zwischen Eiweißkörpern und Anilinfarben, insbesondere unter Benutzung der Dialyse. Pflüg. A. Bd. 96.

Heidenhain, M., **05a.** Über die Massenfärbung mikroskopischer Schnitte auf Glimmerplättchen. Z. w. M. Bd. 22.
—, **05b.** Trichloressigsäure als Fixierungsmittel. Z. w. M. Bd. 22.
—, **05c.** Über Färbung von Knochenknorpel für Kurszwecke. Z. w. M. Bd. 22.
—, **05d.** Über die Anwendung des Azokarmins und der Chromotrope. Z. w. M. Bd. 22, p. 337 ff.
—, **07.** Plasma und Zelle. 1. Abt., 1. Lief. Jena.
—, **08a.** Über die Haltbarkeit mikrosk. Präparate etc. Z. w. M. Bd. 25, p. 397—400.
—, **08b.** Über Vanadiumhämatoxylin, Pikroblauschwarz und Kongo-Korinth. Z. w. M. Bd. 25, p. 401—410.
—, **11.** Plasma und Zelle. 1. Abt. 2. Lief. Jena.
—, **13.** Über die Bearbeitung der Sehnen zu Kurszwecken, insbesondere über die Verwendung des Rutheniumrots und der Malloryschen Bindegewebsfärbung. Z. w. M. Bd. 30, p. 161—167.
—, **13.** Die Bearbeitung der Sehnen zu Kurszwecken. Z. w. M. Bd. 30, p. 161—167.
—, **15.** Über die Mallorysche Bindegewebsfärbung mit Karmin und Azokarmin als Vorfarben. Z. w. M. Bd. 32, p. 361 bis 372.
—, **16.** Das Anhauchen des Blockes als Hilfsmittel beim Abziehen der Paraffinschnitte. Z. w. M. Bd. 33, p. 235—237.
—, **16.** 25 Jahre Eisenhämatoxylin. Z. w. M. Bd. 33, p. 225—231.
—, **17.** Über neuere Sublimatgemische. Z. w. M. Bd. 33, p. 232—234.
—, **18.** Über progressive Veränderungen der Muskulatur bei Myotonia atrophica. Ziegl. Beitr. Bd. 64, p. 198—225.
Heidenhain, R., **70.** Untersuchungen über den Bau der Labdrüsen. A. m. A. Bd. 6, p. 368—406, 2 Taf.
—, **80.** Physiologie der Absonderungsvorgänge. Handbuch der Physiol. von L. Hermann. Bd. V, p. 1—420.
—, **86.** Eine Abänderung der Färbung mit Hämatoxylin und chromsauren Salzen. A. m. A. Bd. 27.
—, **88.** Beiträge zur Histologie und Physiologie der Dünndarmschleimhaut. Pflüg. A. Bd. 43. Suppl.
Heineke, H., **05.** Experimentelle Untersuchungen über die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf das Knochenmark etc. Deutsche Zeitschrift für Chirurgie Bd. 78.
Held, H. Festschr. f. Flechsig.
—, **17.** Untersuchungen über den Vorgang der Befruchtung. I. Der Anteil des Protoplasmas an der Befruchtung von Asc. megal. A. m. A. Bd. 89 II, p. 65—76.
Helly, K., **04.** Eine Modifikation der Zenkerschen Fixierungsflüssigkeit. Z. w. M. Bd. 20.
Henke und Zeller, 05. Zbl. Path. Bd. 16.
Henle, J., 41. Allgemeine Anatomie. Leipzig. 6. Bd. des Sömmeringschen Handbuches: »Vom Bau des menschlichen Körpers«.

Henle, J., 71. Handbuch der systematischen Anat. des Menschen. Bd. 3, Abt. 2 (Vorrede).
Hensen, V., 76. Beobachtungen über die Befruchtung und Entwicklung des Kaninchens und Meerschweinchens. Zeitschr. f. Anat. und Entw. Bd. 1, p. 213 und 353.
Herfort, 00. Die Reifung und Befruchtung des Eies von Petrom. fluv. A. m. A. Bd. 57, p. 54—94.
Hermann, F., 93. Technik. Methoden zum Studium des Archiplasmas und der Centrosomen tierischer und pflanzlicher Zellen. Ergeb. Anat. u. Entwicklungsgesch. Bd. 2, Abt. 2.
—, **94.** Notiz über die Anwendung des Formalins als Härtungs- und Konservierungsmittel. An. An. Bd. 9.
Hertwig, O., 83. Die Entwicklung des mittleren Keimblattes der Wirbeltiere. Jena.
Hertwig, O. und Poll, H., 07. Zur Biologie der Mäusetumoren. Abh. K. Preuß. Akad. Wiss.
Herwerden, van, M. A., 14. Über die Nucleare als Reagens auf die Nucleinsäureverbindungen der Zelle. An. An. Bd. 47, p. 312—325.
—, **13.** Über die Nucleasewirkung auf tierische Zellen. A. Zellf. Bd. 10. 431—450.
Herxheimer, G., 01. Über Fettfarbstoffe. D. med. Woch. p. 607.
—, **12.** Technik der pathol.-histolog. Untersuchung. Wiesbaden.
Herxheimer, K., 89. Über eigentümliche Fasern in der Epidermis etc. A. Dermat. Syphil. Bd. 21.
—, **09.** Über eine neue Fibrinmethode. Münch. med. Woch., p. 1695.
—, **15.** Über die Darstellung membranartiger Bildungen im menschlichen Gewebe. Berl. klin. Woch. Bd. 52, p. 1040.
Herzfeld, E., 17. Über die Natur des am lebenden Tier erhaltenen granulären Färbungen bei Verwendung basischer und saurer Farbstoffe. Anat. H. Bd. 54, p. 447—523.
Herzog, 10. Artikel »Auge« in der Enz. d. mikr. Technik. 2. Aufl. Bd. I, p. 69—98.
Hesse-Doflein 10. 14. Tierbau und Tierleben. Bd. II. Das Tier als Glied des Naturganzen von Fr Doflein. Leipzig u. Berlin. Teubner.
Hirschler, J., 15. Über ein Verfahren zur gleichzeitigen Darstellung des Golgi-Apparates und der Mitochondrien. Z. w. M. Bd. 32, p. 168—170.
His, W., 61. Untersuchungen über den Bau der Lymphdrüsen. Z. w. Zool. Bd. 11, 24 p., Taf. 8, 9.
—, **68.** Untersuchungen über die erste Anlage des Wirbeltierleibes. Leipzig.
—, **87.** Über die Methoden der plastischen Rekonstruktion etc. An. An. Bd. 2.
Hitschmann, F., und Adler, L., 08. Der Bau der Uterusschleimhaut des geschlechtsreifen Weibes mit besonderer Berücksichtigung der Menstruation. Monatschr. Geburtsh. Gynäk. Bd. 27.

Hoeber, 14. Physikal. Chemie der Zellen und Gewebe. 4. Aufl., p. 81.
Hoehl, E., 97. Zur Histologie des adenoiden Gewebes mit 2 Taf. A. Anat. Physiol., Anat. Abt. 1897, p. 133—152.
Hörmann, K., 07, 08. Über das Bindegewebe der weiblichen Geschlechtsorgane. Arch. f. Gynäk. Bd. 82, 84, 86.
Holmgren, E., 99. Weitere Mitteilungen über den Bau der Nervenzellen. An. An. Bd. 16, p. 388—397.
—, **01.** Beiträge zur Morphologie der Zelle. 1. Nervenzellen. Anat. Hefte, 1. Abt., Heft 59 (18. Bd., H. 2).
Holmgren, F., 74. Methode zur Beobachtung des Kreislaufs in der Froschlunge. Beiträge zur Anat. und Physiol. Festgabe für Ludwig. Leipzig.
Hornowski, H., 13. Über die gleichzeitige Färbung der elastischen Fasern und des Fettgewebes. Zbl. Path., Bd. 24. Nr. 20.
Hoyer, H., 90. Über den Nachweis des Muzins in Geweben mittels d. Färbemethode. A. m. A. Bd. 36, p. 310—374.
—, **10.** Injektion der Blut- und Lymphgefäße. Enzykl. mik. Technik. 2. Aufl. p. 634—697.
Huber, G. K., 11. A Method for isolating the renals tubules of mammalia. Anat. Rec. Bd. 5.
Hueck, W., 12. Pigmentstudien. Ziegl. Beitr. Bd. 54, p. 68 bis 232.
Hueter, C., 11. Zur Technik der Bindegewebsfärbung. Zbl. Path. Bd. 22.
Jackson, C. J., 04. Zur Histologie und Histogenese des Knochenmarkes. A. Anat. Physiol., Anat. Abt., p. 33—70.
Jacobstal, E., 09. Über intravitale Färbung. Verh. deutsch. path. Ges. Leipzig. p. 380—385.
Jaffé, R. H., und Loewenfeld, W., 12. Versuche einer Anwendung der Unna-Pappenheimschen Färbung an drüsigen Organen. Virch. A. Bd. 210, p. 419—425.
—, —, **14.** Beiträge zur Kenntnis der Langerhansschen Inseln im Pankreas. Virch. Arch. Bd. 216, p. 10—25.
Jentsch-Wetzlar, 13. Das binokulare Mikroskop. Z. w. M. Bd. 30, p. 299—318.
Johnson. F. P., 13. The effects of distention of the intestine upon shape of villi and glands. Am. Journ. Anat. Bd. 14, p. 235—250.
Jolly, 10. Sur la survie des cellules en dehors de l'organisme. C. r. Soc. Biol. T. 69, p. 86.
—, **13.** Nouvelles observations sur la survie des leucocytes. C. r. Soc. biol. 74.
Jores, 13. Verh. D. pathol. Ges.
Joris, H., 04. A propos d'une nouvelle méthode de coloration des neurofibrilles. Bull. de l'acad. r. de méd. de Belg. Bd. 18.
Joseph, M., 05. Dermatologische Technik. Berlin.
Kabsch, 12. Zur Paraffintechnik. Z. w. M. Bd. 29, p. 548, 552.

Kahlden, v. 95 und **98.** Technik der histologischen Untersuchung pathologisch-anatomischer Präparate. 4. Aufl. 1895 und 5. Aufl. 1898. Jena. G. Fischer.

Kaiserling, K., **10.** Encykl. mikr. Technik. 2. Aufl., Bd. 2, p. 125—153.

—, **16.** Lehrbuch der Mikrophotographie. 2. Aufl. 119 S. Berlin.

Kardos, E., **11.** Zur Kenntnis der neutrophilen und azurophilen Körnung, nebst einer neuen Färbemodifikation. Fol. haem. Bd. 12, p. 39.

Kaiserling, C., und **Germer,** R., **93.** Über d. Einfluß d. gebräuchl. Konserv.- und Fixationsmeth. auf d. Größenverhältnisse tierischer Zellen. Virch. A. Bd. 133, p. 79—104.

Kallius, E., **92.** Ein einfaches Verfahren, um Golgische Präparate für die Dauer zu fixieren. Anat. Hefte, 1. Abt., 5. Heft, p. 271—275.

—, **08.** Über die Entfernung der Gallerthülle des Amphibienlaiches. An. An. Bd. 33.

Kann, H., **89.** Über d. Epithel d. Ureters. Med. In.-Diss. Münch.

Kasarinoff, 10. Vergleichende Untersuchungen zur Histologie der Lipoide. Ziegl. Beitr. Bd. 49, p. 490—500.

Kastschenko, N., **86.** Methode zur genaueren Rekonstruktion kleinerer makroskopischer Gegenstände. Arch. f. Anat.

—, **87.** Die graphische Isolierung. An. An. Bd. 2.

—, **88.** Über das Beschneiden mikroskopischer Objekte. Z. w. M. Bd. 5.

Kató, H., **08.** Eine neue Neurofibrillenfärbung. Fol. neurobiolog. Bd. 2, p. 262—264.

Katz, L., **07.** Zur mikroskopischen Untersuchung des inneren Ohres. Arch. Ohrenheilk. Bd. 74, p. 135—147.

Kawamura, R., **11.** Die Cholesterinverfettung. G. Fischer, Jena.

Kempf, R., **10.** Allgemeine Laboratoriumstechnik. In Abderhaldens Handb. biochem. Arbeitsmethoden I, p. 1—281. Berlin.

Kiyono, K., **14.** Zur Frage der histiozytären Blutzellen. Fol. haem. Bd. 18, p. 149—170.

—, **14.** Eine neue Modifikation der Altmannschen Granulafärbung ohne Osmiumsäure. Zbl. Path. Bd. 25, p. 481 bis 482.

—, **14.** Die vitale Karminspeicherung. Ein Beitrag zur Lehre von der vitalen Färbung mit besonderer Berücksichtigung der Zelldifferenzierungen im entzündeten Gewebe. Jena. 258 S.

Klaatsch, H., **87.** Zur Färbung von Ossifikationspräparaten. Z. w. M. Bd. 4.

Klarfeld nach Spielmeyer, Technik der mikr. Unters. des Nervens. 2. Aufl. p. 122.

Klebs, 69. Die Einschmelzungsmethode. A. m. A. Bd. 5, p. 164.

Koch, G. v., **78.** Über die Herstellung dünner Schliffe von solchen Objekten, welche aus Teilen von sehr verschiedener Konsistenz zusammengesetzt sind. Zool. Anz. 1. Jahrg., p. 36—37.
Koch, K., **13.** Über die Bedeutung der Langerhansschen Inseln im menschlichen Pankreas. Virch. A. Bd. 211, p. 321—330.
Kockel, 99. Eine neue Methode der Fibrinfärbung. Zbl. Path. Bd. 10, p. 749—757.
Koehler, A., **04.** Mikrophotogr. Untersuchungen mit ultraviolettem Licht. Z. w. M. Bd. 21, p. 129—165.
—, **10.** Über die Verwendung des Quecksilberlichtes für mikroskopische Arbeiten. Z. w. M. Bd. 27, p. 329—338.
Kölliker, A., **81.** Zur Kenntnis des Baues der Lunge des Menschen. Verh. Physik.-med. Gesellsch. Würzburg. Bd. 16.
—, **86.** Der feinere Bau des Knochengewebes. Z. w. Zool. Bd. 44, p. 1—37.
—, **93.** Handbuch der Gewebelehre des Menschen. 6. Aufl., Bd. 2, 1. Hälfte. Leipzig.
Kolmer, W., **09.** Über einen sekretartigen Bestandteil der Stäbchen-Zapfenschicht der Wirbeltierretina. Pflüg. A. Bd. 129, p. 35—45.
—, **09.** Histolog. Studien am Labyrinth mit besonderer Berücksichtigung des Menschen, der Affen und der Halbaffen. A. m. A. Bd. 74, p. 259—310.
—, **12.** Erfahrungen über Fixation ganzer Tiere. An. An. Bd. 42, p. 47—59.
Kolossow, A., **92.** Über eine neue Methode der Bearbeitung der Gewebe mit Osmiumsäure. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 9.
—, **98.** Eine Untersuchungsmethode des Epithelgewebes, bes. der Drüsenepithelien etc. A. m. A. Bd. 52.
Kopsch, Fr., **96.** Erfahrungen über die Verwendung des Formaldehyds bei der Chromsilber-Imprägnation. An. An. Bd. 11, p. 727.
—, Fr., **98.** Die Entwicklung der äußeren Form des Forellenembryos. A. m. A. Bd. 51, p. 181—213.
—, **02.** Die Darstellung des Binnennetzes Golgi in spinalen Ganglienzellen und anderen Körperzellen mittels Osmiumsäure. Sitz.-Ber. K. Preuß. Akad. Wiss. Berlin, Bd. 39.
—, **04.** Über den Kern der Thrombozyten und über einige Methoden zur Einführ. in das Studium der Säugetier-Thrombozyten. Intern. Mon. Anat. Physiol. Bd. 21.
—. **06.** Kleine Mitteilungen z. mikroskopisch. Technik. Intern. Mon. Anat. Physiol. Bd. 23, p. 359 ff.
Kolster, R., **11.** Mitochondria und Sekretion in den Tubuli contorti der Niere. Eine experimentelle Studie. Ziegl. Beitr. Bd. 51, p. 209—226.
Korff, K., **07.** Die Analogie in d. Entwicklung d. Knochen-'Zahnbeingrundsubstanz d. Säugetiere etc. A. m. A. Bd. 69.
Korschelt udd **Heider, 09.** Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der wirbellosen Tiere. I—IV. Jena.

Kossa, v., 01. Ziegl. Beitr. Bd. 29, p. 163.
Kostanecki, K., und **Siedlecki,** M., **97.** Über das Verhältnis der Zentrosomen zum Protoplasma. A. m. A. Bd. 48.
Krabbe, K. H., **16.** Histologische und embryologische Untersuchungen über die Zirbeldrüse des Menschen. Anat. Hefte 54, p. 191—319.
Kraus, E. J., **12.** Die Lipoidsubstanzen der menschlichen Hypophyse und ihre Beziehung zur Sekretion. Ziegl. Beitr. Bd. 54, p. 520—558.
—, **12.** Zur elektiven Darstellung der eosinophilen Zellen der Hypophyse. Frankf. Z. Path. Bd. 10, p. 161—170.
—, **14.** Das Kolloid der Schilddrüse und Hypophysis des Menschen. Visch. A. Bd. 218, p. 107—128.
Krause, C., **44.** Artikel Haut in: Handwörterb. d. Physiol., herausg. von R. Wagner. 2. Bd. Braunschweig.
Krause, R., **93.** Beiträge zur Histologie der Wirbeltierleber. A. m. A. Bd. 42, p. 53—82.
—, **09.** Eine neue Gefrier- und Kühlvorrichtung für das Mikrotom. Z. w. M. Bd. 25.
—, **09.** Die Herstellung von transparenter roter Leiminjektionsmasse. Z. w. M. Bd. 26, p. 1—4.
—, **11.** Kursus der normalen Histologie. Berlin-Wien.
Krause, W., **84.** Untersuchungsmethoden. Int. Mon. Anat. Physiol. Bd. 1.
Kreibich, K., **13.** Färbung der marklosen Hautnerven beim Menschen. Berl. klin. Woch. Bd. 50, p. 546—547.
—, **18.** Zu Blochs Dopa-Reaktion. Derm. Woch. Bd. 66, p. 193—195.
Krönig, 86. Einschlußkitt für mikroskopische Präparate. A. m. A. Bd. 27, p. 657—658.
Kromayer, E., **92.** Die Protoplasmafaserung der Epithelzelle. A. m. A. Bd. 39.
Krugenberg, B., und **Thielemann,** E. Th., **17.** Eine neue Färbung für basische Eiweiße, die Wasserblau + Eosin + Phloxin-Färbung. Z. w. M. Bd. 34, p. 234—240.
—, **18.** Weitere Mitteilung über die Färbung WEP und über zwei neue Trioxychrome. Z. w. M. Bd. 35, p. 170—175.
Kühne, W., **62.** Über die peripherischen Endorgane der motorischen Nerven. Leipzig.
—, **86.** Neue Untersuchungen über die motorische Nervenendigung. Z. Biol. Bd. 23.
Kühne, W., und **Chittenden,** R. H., **89.** Über das Neurokeratin. Z. Biol. Bd. 26.
Kühne, W., und **Lea,** A. Sch., **74.** Über die Absonderung des Pankreas. Verh. d. Naturhist. Ver. Heidelberg (N. F.), Bd. 1.
Kuliabko, 02. Studien über die Wiederbelebung des Herzens. Pflüg. A. Bd. 90, p. 461—471. (Auch Bd. 97 u. Zbl. Physiol. Bd. 15, 16.)
Kull, H., **11.** Über die Entstehung der Panethschen Zellen. A. m. A. Bd. 77, p. 541—556.

Kull, H., **13.** Die »basal gekörnten Zellen« des Dünndarmepithels. A. m. A. Bd. 81, p. 185—195.
—, **13.** Eine Modifikation der Altmannschen Methode zum Färben des Chondriosomen. An. An. Bd. 45, p. 153—157.
Kultschizky, N., **87a.** Zur histologischen Technik. II. Zelloidin-Paraffin-Einbettung. Z. w. M. Bd. 4, p. 48—49.
—, **90.** Über Färbung der markhaltigen Nervenfasern in den Schnitten des Zentralnervensystems mit Hämatoxylin und Karmin. An. An. Bd. 5.
Kupffer, C., **76.** Über Sternzellen der Leber. A. m. A. Bd. 12, p. 353—358.
—, **83.** 2. Über den »Achsenzylinder« markhaltiger Nervenfasern. Sitz.-Ber. Akad. München, Bd. 13, p. 466—475, 1 Taf.
—, **89.** Über den Nachweis der Gallenkapillaren und spezifischer Fasern in den Leberläppchen durch Färbung. Sitz.-Ber. Ges. Morph. Phys. München Bd. 5, p. 82—86.
—, **99.** Über die sog. Sternzellen der Säugetierleber. A. m. A. Bd. 54, H. 2, p. 254—288, mit 3 Taf.
Kupffer und **Benecke, 78.** Der Vorgang der Befruchtung am Ei der Neunaugen.
Lang, Arnold, **78.** Konservation der Planarien. Zool. Anz. 1. Jahrg.
Langendorff, O., **89.** Beiträge zur Kenntnis der Schilddrüse. Arch. Anat. Phys., Phys. Abt., Suppl., p. 219—242, T. 5.
Langley, J. N., **79.** On the structure of serous glands in rest and activity. Proceed. Royal Soc. Vol. 29, p. 377—382.
Lebedkin, S., **14.** Zur Technik der plastischen Rekonstruktion. Z. w. M. Bd. 31, p. 114—119.
Leber, T., **68.** Zur Kenntnis der Imprägnationsmethoden der Hornhaut und ähnlicher Gewebe. Arch. Ophth. Bd. 14.
Ledermann und **Blanck, 02.** Die mikroskopische Technik im Dienste der Dermatologie. Ein Rückblick auf die Jahre 1895—1900. Dermat. Zeitschrift und separat, Berlin.
Ledermann, R., und **Ratkowski, 94.** Die mikrosk. Technik im Dienste der Dermatologie. Wien u. Leipzig. W. Braumüller.
Lee, A. B., und **Mayer,** P., **12.** Grundzüge d. mikroskopischen Technik für Zoologen und Anatomen. Berlin. 4. Aufl.
Legendre, R., **10.** Recherches sur le réseau interne de Golgi etc. An. An. Bd. 36, p. 207—217.
Lenhoff, C., **10.** Beitrag zur Histotechnik des Zentralnervensystems. Neurol. Zbl. p. 1—2.
Lenhossék, M. v., **95.** Der feinere Bau des Nervensystems im Lichte neuerer Forschungen. Berlin. 2. Aufl.
—, **98.** Bemerkungen über den Bau der Spinalganglienzellen. Neurol. Zbl. Jahrg. 17, p. 577—593.
—, **04.** Ergänzungsheft z. 25. Bd. des Anat. Anzeigers, S. 183.
Lepkowsky, W., **92.** Beitrag zur Histologie des Dentins mit Angabe einer neuen Methode. An. An. Bd. 7.

Leschke, E., **14.** Untersuchungen über die Funktion der Niere. Münch. med. Woch. Bd. 61, p. 1498—1499.

Levi, G., **04.** Il fluoruro di sodio nella tecnica istologica. Monitore zoologico italiano. Anno 15.

—, **04a.** Ricerche comparative sul volume delle cellule. Rendic. dell' Accad. medicofisica fiorentine.

—, **13.** Note citologiche sulle cellule somatiche dell' ovario dei mammiferi. A. Zellf. Bd. 11, p. 515—556.

Lewis, W. H. and M. R., **12.** The cultivation of sympathetic nerves etc. Anat. Rec. Bd. 6, p. 7—31.

—, **15.** Mitochondria in tissue culture. Amer. Journ. Anat. Bd. 17, p. 339—401.

Lewitzky, G., **11.** Die Chloroplastenanlagen in lebenden und fixierten Zellen von Elodea canadensis. Ber. d. d. bot. Ges. Bd. 29, p. 697.

—, **11.** Vergleichende Untersuchung über die Chondriosomen in lebenden und fixierten Pflanzenzellen. Ber. d. d. bot. Ges. Bd. 29, p. 685.

Liesegang, R. E., **11.** Die Kolloidchemie der histologischen Silberfärbung. Kolloidchem. Beihefte Bd. 3, H. 1, p. **1.**

—, **11.** Das Verhalten minimaler Räume bei einigen Färbungen. Z. w. M. Bd. 28, p. 257—260.

—, **14.** Exogene Fällungen bei der histologischen Färbung. Z. w. M. Bd. 31, p. 466—471.

Lipp, H., **17.** Über die Verwendung von Farbstiften zur Färbung mikroskopischer Präparate. Münch. med. Woch. Bd. 64, p. 702—703.

Locke, 01. Die Wirkung der Metalle des Blutplasmas etc. auf das isolierte Säugetierherz. Zbl. Physiol. Bd. 14, p. 670 bis 672.

Loeb, L., **07.** Über den Einfluß des Lichtes auf die Färbung etc. A. Entw. Mech. Bd. 23, p. 359—378.

Löwit, 75. Die Nerven der glatten Muskulatur. Wiener Sitz.-Ber. Bd. 71.

Loginow, W., **12.** Zur Frage von dem Zusammenhang von Muskelfibrillen und Sehnenfibrillen. A. Anat. Physiol. Anat. Abt., p. 171—188.

London, B., **81.** Das Blasenepithel bei verschiedenen Füllungszuständen der Blase. A. Anat. Physiol., Physiol. Abt, p. 317—330.

London, E. S., **05.** Zur Lehre von dem feineren Bau des Nervensystems. A. m. A. Bd. 63.

Lubosch, W., **01.** Einige Mitteilungen über Vorkommen, Fang und Zucht der Neunaugen. Z. f. Fischerei u. deren Hilfswissenschaften Bd. 9.

Ludwig Ferdinand, Dr., Prinz von Bayern, **84.** Über Endorgane der sensiblen Nerven in der Zunge der Spechte. Münchener akad. Sitz.-Ber.

Luna, E., **13.** Lo sviluppo dei plastosomi negli anfibi. A. Zellf. Bd. 11, p. 583—629.

Lundvall, H., **04.** Über Demonstration embryonaler Knorpelskelette. An. An. Bd. 25.
Maas, Otto, **99.** Verlauf und Schichtenbau des Darmkanals von Myxine gl. L. Festschr. 70. Geb. v. Kupffers, p. 197—219.
Macallum, A. B., **12.** Die Methoden der biologischen Mikroanalyse. In Abderhaldens Handb. der biochem. Arbeitsmethoden. V, 2, p. 1099—1147.
Mc Gill, C., **09.** Mallory's anilin blue connective tissue stain. An. An. Bd. 35, p. 75—76.
Mall, F., **91.** Das retikulierte Gewebe und seine Beziehungen zu den Bindegewebsfibrillen. Abh. Math. Physik. Klass. Sächs. Ges. Wiss. Bd. 17, p. 299—338.
—, **96.** Reticulated tissue, and its relation to the connective tissue fibrils. Johns Hopkins Hosp. Rep. Vol. 1. Baltimore.
Mallory, F. B., **91.** Phosphor-molybdic Acid Haematoxylin. An. An. Bd. 6.
—, **00.** A contribution to staining methods. Journ. Exper. Med. Vol. 5. Referiert in: Z. w. M. Bd. 18.
Mann, G., **94.** Über die Behandlung der Nervenzellen für experimentell-histolog. Untersuchungen. Z. w. M. Bd. 11, p. 479.
Marchi et **Alghieri, 85.** Sulla degenerazioni discendenti consecutivi a lesioni della corteccia cerebrale. Rivista sperimentale di frenatria. Vol. XI.
Marcora, F., **09.** Über die Beziehungen zwischen dem Binnennetze und den Nißl-Körperchen in den Nervenzellen. An. An. Bd. 35, p. 65—69.
Maresch, R., **05.** Über Gitterfasern der Leber und die Verwendbarkeit der Methode Bielschowskys zur Darstellung feinster Bindegewebsfibrillen. Zbl. Path. Bd. 16.
Marpmann, G., **06.** Aceton in der mikroskopischen Technik. Zeitschr. angew. Mikrosk. Bd. 12, p. 157—161.
Martinotti, L., **15.** Della corneificazione dell'unghia. Int. Mon. Anat. Phys. Bd. 31, p. 359—379.
Matsunaga, 18. Über myeloide Zellherde im Nierenhilusbindegewebe bei Leukämie. Zbl. Path. Bd. 29, p. 377—382.
Maximow, A., **02.** Experim. Untersuch. über die entzündliche Neubildung von Bindegewebe. Ziegl. Beitr. Bd. 5.
—, **06.** Über die Zellformen des lockeren Bindegewebes. A. m. A. Bd. 67.
—, **09.** Über zweckmäßige Methoden für cytologische und histogenetische Untersuchungen am Wirbeltierembryo, mit spezieller Berücksichtigung der Celloidinschnittserien. Z. w. M. Bd. 26, p. 177—190.
May, R., **06.** Eine neue Methode der Romanowsky-Färbung. Münch. med. Woch.
May, R., und **Grünwald,** L., **02.** Über Blutfärbung. Zentralbl. f. inn. Med. Jahrg. 23. Ref. in: Münch. med. Woch.
Mayer, P., **81.** Über die in der Zoologischen Station zu Neapel gebräuchlichen Methoden zur mikroskopischen Untersuchung. Mitt. Zool. Stat. Neapel Bd. 2, p. 1—27.

Mayer, P., **83.** Einfache Methode zum Aufkleben mikroskopischer Schnitte. Mitt. Zool. Stat. Neapel Bd. 2, p. 521—522.
—, **87.** Aus der Mikrotomtechnik. Int. Mon. Anat. Physiol. Bd. 4.
—, **91.** Über das Färben mit Hämatoxylin. Mitt. Zool. Station zu Neapel. Bd. 10, p. 170—186.
—, **92.** Über das Färben mit Karmin, Kochenille und Hämatein-Tonerde. Mitt. Zool. Stat. Neapel Bd. 10.
—, **96.** Über Schleimfärbung. Mitt. Zool. Stat. Neapel Bd. 12.
—, **97.** Über Pikrokarmin. Z. w. M. Bd. 14, p. 18.
—, **01.** Siehe **Lee**, A. B., und **Mayer**, P.
—, **04.** Notiz über Hämatein und Hämalaun. Zeitschr. für wiss. Mikrosk. Bd. 20.
—, **07.** Siehe **Lee**, A. B., und **Mayer**, P.
—, **08.** Zur Bleichtechnik. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 24.
—, **09.** Zur Färbung des Glykogens. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 26, p. 513—522.
—, **10.** Ein neues Mikrotom: das Tetrander. Zeitschr. wiss. Mikr. Bd. 27, p. 52—62.
—, **15.** Über Beizen und Beizenfarbstoffe. Z. w. M. Bd. 32, p. 249—265.
—, **16a.** Allerlei Mikrotechnisches. Z. w. M. Bd. 33, p. 238 bis 247.
—, **16b.** Über den Ersatz des Nelkenöls durch andere Intermedien. Z. w. M. Bd. 33, p. 1—6.
—, **17.** Über die Reinheit unserer Farbstoffe. Z. w. M. Bd. 34, p. 305—328.
—, **18a.** Über die sog. Sublimatkristalle in mikroskopischen Präparaten. Z. w. M. Bd. 35, p. 161—169.
—, **18b.** Zur Färbung der Schollen in den Ganglienzellen. Z. w. M. Bd. 35, p. 81—88.
Mayer, A., **Schaeffer**, G., und **Rathery**, F., **12.** C. R. Soc. Biol. Paris. Bd. 72.
—, —, —, **13.** C. R. Soc. Biol. Paris. Bd. 73.
—, —, —, **13.** Valeur de quelques méthodes histologiques pour la fixation des corps gras. C. R. Soc. Biol. Paris. Bd. 74, p. 241—243.
Mayer, Paula, **09.** Neurolog. Zbl. Bd. 28.
Mercier, A., **94.** Die Zenkersche Flüssigkeit, eine neue Fixierungsmethode. Z. w. M. Bd. 11.
Merkel, F., **70.** Über die Macula lutea des Menschen und die Ora serrata einiger Wirbeltiere. Leipzig.
—, **77.** Eine neue Methode für Untersuchung des Zentralnervensystems. A. m. A. Bd. 14.
—, **83.** Die Speichelröhren. Rektoratsprogramm Rostock. p. IV und 1—28. 2 Taf. Leipzig.
—, **09.** Betrachtungen über die Entwicklung des Bindegewebes. Anat. Hefte Bd. 38, p. 323—392.
Merton, H., **07.** Über ein intracelluläres Netzwerk der Ganglienzellen. An. An. Bd. 30, p. 401—407.

Metz, C., **12.** Das Stufenmikrometer mit vereinfachter Mikronteilung. Z. w. M. Bd. 29, p. 72—78.
Metzner, R., **07.** Die histolog. Veränderungen der Drüsen bei ihrer Tätigkeit. Handb. Physiol. von Nagel. II. Bd. 2. Abt.
—, **15.** Die wichtigsten Methoden zus Darstellung von Zellgranulationen in fixierten Objekten. In Abderhaldens Handbuch d. biochem. Arbeitsmeth. Bd. VIII, p. 185—221.
Meves, Fr., **03.** Über oligopyrene und apyrene Spermien und ihre Entstehung. Nach Beobachtungen an Paludina und Pygaera. A. m. A. Bd. 61.
—, **04.** Hünefeld-Hensensche Bilder der roten Blutkörperchen der Amphibien. Anat. Anz. Bd. 24.
—, **03.** Artikel »Flemmingsche Flüssigkeit«, »Flemmingsche Dreifachfärbung« in: Enzyklopädie d. mikr. Technik.
—, **06.** Zur Kenntnis der Thrombozyten des Salamanderblutes etc. A. m. A. Bd. 68, p. 311—358.
—, **08.** Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. Cytologische Studien am Hühner-Embryo. A. m. A. Bd. 72.
—, **10.** Über Strukturen in den Zellen des embryonalen Stützgewebes sowie über das Entstehen der Bindegewebsfibrillen, insbesondere derjenigen der Sehne. A. m. A. Bd. 75, p. 149 bis 208.
—, **11.** Über die Beteiligung der Plastochondrien an der Befruchtung der Eier von Ascaris megaloceph. A. m. A. Bd. 76.
—, **14.** Die Plastochondrien in dem sich teilenden Ei von Asc. megal. A. m. A. Bd. 84, p. 89—110.
Meves, Fr., und **Duesberg,** Jules, **08.** Die Spermatozytenteilungen bei der Hornisse. A. m. A. Bd. 71.
Meyer, Erich, **06.** Über die Resorption und Ausscheidung des Eisens. Ergebnisse der Physiol., 5. Jahrg.
Meyer, E., und **Rieder,** H., **07.** Atlas der klinischen Mikroskopie des Blutes. Leipzig.
Meyer, S., **95.** Die subkutane Methylenblauinjektion, ein Mittel zur Darstellung der Elemente des Zentralnervensystems vom Säugetiere. A. m. A. Bd. 46.
—, **96.** Über eine Verbindungsweise der Neuronen. Nebst Mitteil. über die Technik etc. der subkutanen Methylenblauinjektion. A. m. A. Bd. 47, p. 734—748.
Michaelis, L., **00.** Die vitale Färbung, eine Darstellungsmethode der Zellgranula. A. m. A. Bd. 55, p. 558—575.
—, **02.** Einführung in die Farbstoffchemie. Berlin.
—, **05.** Experimentelle Untersuchungen über den Krebs der Mäuse. Med. Klinik.
Michailow, S., **08.** Zur Frage über den feineren Bau des intrakardialen Nervensystems der Säugetiere. Int. Mon. Anat. Physiol. Bd. 25, p. 44—89.
—, **10.** Die Anwendung des Methylenblaus in der Neurologie. Z. w. M. Bd. 27, p. 1—21.

Minot, Ch. S., **97.** On two forms of automatic microtomes. Science. N. S., vol. V, p. 857 ff.
Mislawsky, U., **13.** Über das Chondriom der Pankreaszellen. A. m. A. Bd. 81, p. 394—429.
Möllendorf, v., 13. Über Vitalfärbung der Granula in den Schleimzellen des Säugerdarmes. Verh. Anat. Ges., p. 117 bis 123.
—, **15.** Die Dispersität der Farbstoffe, ihre Beziehungen zur Ausscheidung und Speicherung in der Niere. Anat. Hefte Bd. 53, p. 81—323.
—, **16.** Die Speicherung saurer Farben im Tierkörper, ein physikalischer Vorgang. Kolloid. Zeitschr. Bd. 18, p. 81—90.
Mönkeberg und **Bethe, 99.** Die Degeneration der markhaltigen Nervenfaser der Wirbeltiere unter hauptsächlicher Berücksichtigung der Primitivfibrillen. A. m. A. Bd. 54.
Moleschott, Jak., **59.** Ein Beitrag zur Kenntnis der glatten Muskeln. Untersuchungen z. Naturlehre. Bd. 6.
Moleschott, J., **Piso-Borme,** G., **63.** Über das Vorkommen gabelförmiger Teilungen an glatten Muskelfasern. Untersuch. zur Naturlehre d. Menschen u. d. Tiere Bd. 9.
Moll, J. M., 10. Die puerperale Involution des Uterus vom Maulwurf. Anat. Hefte Bd. 40, p. 613—715.
Mollier, S., **09.** Die Blutbildung in der embryonalen Leber des Menschen und der Säugetiere. A. m. A. Bd. 74, p. 474 bis 524.
—, **11.** Über den Bau der kapillaren Milzvenen. A. m. A. Bd. 76, p. 608—657.
—, **13.** Die lymphoepithelialen Organe. Sitzgsber. der Ges. f. Morphol. u. Physiol. XXIX.
Morel et **Doléris, 02.** Compt. Rend. soc. biol. Paris. T. 54, p. 1255—1256.
Müller, Albert, **07.** Wie ändern die von glatter Muskulatur umschlossenen Hohlorgane ihre Größe? Pflüg. A. Bd. 116.
Müller, Erik, **92.** Zur Kenntnis der Labdrüsen der Magenschleimhaut. Verh. Biol. Vereins Stockholm Bd. 4, Nr. 8.
—, **95.** Über Sekretkapillaren. A. m. A. Bd. 45, p. 463—474.
—, **99.** Studien über Neuroglia. A. m. A. Bd. 55, p. 17.
—, **10.** Lebendes und überlebendes Objekt. Encykl. mikr. Techn. 2. Aufl., Bd. 2, p. 2—27.
Müller, H., **59.** Anatomische Untersuchung eines Mikrophthalmus Verhandl. Physik.-med. Gesellsch. in Würzburg. Auch in: Heinrich Müllers Gesammelte und hinterlassene Schriften zur Anatomie und Physiologie des Auges. Bd. 1. Gedrucktes. Herausg. von O. Becker, S. 381.
Müller, H., **17.** Eine einfache Markscheidenfärbung im Paraffin- und Gefrierschnitt nebst Bemerkungen über histol. Darstellung der Muskulatur. Deutsch. med. Wochenschrift Bd. 43, p. 1453—1454.
Münch, K., **03.** Über Nucleinspiralen im Kern der glatten Muskelzellen. A. m. A. Bd. 62, p. 41—54.

Nabias, de, **04.** Nouvelle méthode de coloration rapide du système nerveux au chlorure d'or. Bibliogr. anatom. Bd. 13.
Nägeli, Otto, **07.** Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. Lehrbuch der morphologischen Hämatologie. 1. Hälfte. Leipzig.
Neelsen und **Schiefferdecker,** P., **82.** Beitrag zur Verwendung der ätherischen Öle in der histologischen Technik. A. Anat. Physiol., Anat. Abt.
Negro, C., **87.** Sur les terminaisons nerveuses motrices. Arch. ital. biol. T. 9.
Netoušek, 14. Über Endothelien und ihre Beziehungen zu den Monozyten. Fol. haem. Bd. 19, p. 1—11.
Neuhauss, R., **07.** Lehrbuch der Mikrophotographie. Leipzig. (S. Hirzel.) 3. Aufl., 273 S., 63 Fig., 3 Taf.
Neukirch, P., **09.** Über eine neue Methode der Glykogenfixation. Zbl. Path. Bd. 20, H. 12.
Neumayer, L., **99.** Studie zur Entwicklungsgeschichte des Gehirnes der Säugetiere. Kupffers Festschrift. Jena.
—, **07.** Ein Beitrag zur Technik der Plattenmodelliermethode. Z. w. M. Bd. 24, p. 140—144.
—, **08.** Zur Technik der Celloidineinbettung. Z. w. M. Bd. 25, p. 38—41.
—, **09.** Mikroskopische Technik. Ergebn. Anat. Entw. Bd. 17, p. 158—246.
—, **11.** Neue Instrumente zur Herstellung von Wachsplatten etc. Z. w. M. Bd. 28, p. 291—300.
Nilsson, D., **09.** Die Fischelsche Alizarinfärbung etc. Zool. Anz. Bd. 35, p. 195—202.
Nissl, Fr., **94a.** Über die sog. Granula der Nervenzellen. Neurolog. Zentralbl. Nr. 19, 21, 22.
—, **94b.** Mitteil. über Karyokinese im zentralen Nervensystem. 25. Versammlung des Südwestdeutschen psych. Vereins in Karlsruhe 1893. In: Allgem. Zeitschr. für Psychiatrie und psychisch-gerichtl. Med. Bd. 51, p. 245—247.
—, **95.** Der gegenwärtige Stand der Nervenzellenanatomie und -Pathologie. Zeitschr. f. Psychiatrie Bd. 51.
—, **03 u. 10.** Artikel »Nervensystem« in d. Enzykl. mikr. Technik.
Noll, A., und **Sokoloff,** A., **05.** Zur Histologie der ruhenden und tätigen Fundusdrüsen des Magens. A. Anat. Physiol., Physiolog. Abt.
Novak, K., **02.** Neue Untersuchungen über die Bildung der beiden primären Keimblätter und die Entstehung des Primitivstreifens beim Hühnerembryo. Berlin. Diss.
Nuel, J. P., et **Cornil,** F., **90.** De l'endothelium de la chambre antérieure de l'oeil, particulièrement de celui de la cornée. Arch. Biolog. T. 10.
Oelze, F. W., **14.** Über die färberische Darstellung der Reduktionsorte und Oxydationsorte in Geweben und Zellen. A. m. A. Bd. 84, p. 91 ff.
—, **14.** Die Histologie der Oxydations- und Reduktionsorte. Z. w. M. Bd. 31, p. 43—50.

Oelze, F. W., 14. Die Darstellung der Reduktions- und Sauerstofforte der Gewebe. Z. w. M. Bd. 31, p. 307—309.
Ogushi, K., 08. Bemerkung über die Entfernungsmethode der Gallerthülle des Amphibienlaiches. An. An. Bd. 32, p. 500.
Okajima, K., 11. Fettfärbung durch das Capsicumrot. Z. w. M. Bd. 29, p. 67 f.
Olt, 06. Das Aufkleben mikroskopischer Schnitte. Z. w. M. Bd. 23.
Oppel, A., 91. Über Gitterfasern der menschlichen Leber und Milz. An. An. Bd. 6, p. 165—173, 4 Fig.
—, **91b** und **92.** Die Befruchtung des Reptilieneies. An. An. Bd. 6 und A. m. A. Bd. 39.
—, **12a.** Über die Kultur von Säugetiergeweben außerhalb des Organismus. An. An. Bd. 40, p. 464—468.
—, **12b.** Die Explantation etc. A. Entw. Mech. Bd. 34, p. 132 bis 167.
—, **12c.** Die aktive Epithelbewegung etc. A. Entw. Mech. Bd. 35, H. 2.
—, **14.** Gewebekulturen und Gewebepflege im Explantat. Braunschweig.
Orsós, F., 07. Über das elastische Gerüst der normalen und der emphysematösen Lunge. Ziegl. Beitr. Bd. 41.
Pacini, F., 80. Sur quelques méthodes de préparation etc. Journ. de Micrographie. 4. année.
Pal, J., 86. Ein Beitrag zur Nervenfärbetechnik. Med. Jahrb. Wien, p. 619—631.
Pappenheim, A., 01. Grundriß der Farbchemie zum Gebrauch bei mikroskopischen Arbeiten. Berlin.
—, **01.** Eine panoptische Triacidfärbung. Deutsch. med. Woch. Nr. 46.
—, **08.** Zur Kenntnis und Würdigung der Methylgrün-Pyronin-Reaktion Fol. hacm. Bd. 6 p. 51—65.
—, **10.** Neue zytomorphologische Studien an Blutzellen mit farbenanalytischen Methoden. Fol. haem. Bd. 9, p. 572 bis 640.
—, **11.** Kurze technologische Zusammenstellung der Färbungsvorschriften mit Panchrom. Fol. haem. Bd. 12, p. 178.
—, **11.** Grundriß der hämatologischen Diagnostik und praktischen Blutuntersuchung. Leipzig. Der technische Teil 1919 in 2. Aufl. als: Technik und Methodologie der klinischen Blutuntersuchung. Leipzig.
—, **12.** Die kombinierte May-Giemsa-Essigsäure-Färbungsmethode als histologische Universalübersichtsfärbung. An. An. Bd. 42, p. 525—527.
—, **12.** Histologisch-technische Notiz. Zbl. Path. Bd. 23, Nr. 5.
—, **13c.** Einige Worte über Histiocyten, Splenocyten und Monocyten. Fol. haem. Bd. 16.
Pappenheim und Nakano, J., 13. Beiträge über Beziehungen zwischen Vitalfärbung, Supravitalfärbung und Oxydasereaktion. Fol. haem. Bd. 14, p. 260—294.

Pasini, 05. Über eine Methode zur Demonstration der Epithelfasern in der Haut. Monatsh. prakt. Dermat. Bd. 40.
Patzelt, V., und **Kubik,** J., **12.** Acidophile Zellen in der Nebenniere von Rana esc. A. m. A. Bd. 81, p. 82—91.
Peiser, J., **05.** Über kadaveröse Veränderungen. Zbl. Path. Bd. 16.
Perényi, J., **82.** Über eine neue Erhärtungsflüssigkeit. Zool. Anz. 5. Jahrg.
Peter, K., **99.** Demonstration des Born-Peterschen Verfahrens zur Herstellung von Richtebenen und Richtlinien usf. Verh. d. Anat. Gesellsch. in Tüb. 21./24. V. 1899.
—, **03 u. 10.** Artikel »Rekonstruktion« in der Encyklopädie der Mikr. Technik, 2. Aufl., Bd. 2, p. 451—469.
—, **04.** Eine neue Dotterfärbung. Z. w. M. Bd. 21.
—, **06.** Die Methoden der Rekonstruktion. Jena.
Peterfi, T., **13.** Untersuchungen über die Beziehungen der Myofibrillen zu den Sehnenfibrillen. A. m. A. Bd. 83, p. 1—42.
Petri, R. J., **96.** Das Mikroskop. Berlin. R. Schoetz. 248 p., 191 Abb. im Text.
Podwissotzki, 87. Über die Beziehungen der quergestreiften Muskeln zum Papillarteil der Lippenhaut. A. m. A. Bd. 30, p. 327, T. 17.
Poetter, E., **15.** Über eine neue Modifikation zu den Färbungsmethoden von Gliastrukturen. Z. w. M. Bd. 32, p. 373 bis 378.
Policard, A., **13.** La fixation froide. C. R. Assoc. anat. 41—47.
Policard et Garnier, M., **05.** Altérations cadavériques des épitheliums renaux. C. R. Soc. Biol. Paris.
Poll, 08. Demonstration. Verh. Anat. Ges. 22. Vers.
Pollack, B., **98.** Die Färbetechnik des Nervensystems. 2. Aufl. Berlin (IV, 172 p.).
—, E., **15.** Beitrag zur Färbungstechnik der Neuroglia. Z. w. M. Bd. 32, p. 137—138.
Pommer, 85. Über Methoden, welche zum Studium der Ablagerungsverhältnisse der Knochensalze und zum Nachweis kalkloser Knochenpartien brauchbar sind. Z. w. M. Bd. 2.
Poso, P., **10.** Über Fixierung und Einbettung von Placenta und Uterus des Menschen. Z. w. M. Bd. 27, p. 353—359.
Pranther, V., **02.** Zur Färbung der elastischen Fasern. Zbl. Path. Bd. 13.
—, **02.** Zur Paraffintechnik. Z. w. M. Bd. 19, p. 329—333.
Prowazek, S. v., **07.** Taschenbuch der mikroskopischen Technik der Protistenuntersuchung. Leipzig.
Prudden, J. M., **85.** Fragekasten. Z. w. M. Bd. 2.
Przemicky, A., **97.** Über intravitale Färbung des Kernes und Protoplasmas. Biolog. Zentralbl. Bd. 17.
—, **00.** Über intravitale Färbung des Zellkernes. Sitz.-Ber. Ges. Morph. und Phys. München. Bd. 15, p. 70—74.

Rabl, C., **85.** Über Zellteilung. Morph. Jahrb. Bd. 10, p. 214 bis 330, T. 7—13.
—, **94.** Einiges über Methoden. Z. w. M. Bd. 11.
—, **00.** Über den Bau und Entwicklung der Linse. Leipzig.
Rabl, H., **91.** Die Entwicklung und Struktur der Nebennieren bei den Vögeln. A. m. A. Bd. 38.
Ranke, H., **67.** Studien zur Wirkung des Chloroforms, Äther und Amylens. Centralbl. f. med. Wiss.
Ranke, O., **13.** Neue Kenntnisse und Anschauungen von dem mesenchymalen Syncytium und seinen Differenzierungsprodukten unter normalen und pathologischen Bedingungen, gewonnen mittels der Tanninsilbermethode von K. Achúcarro. Sitzgsber. Heidelb. Akad. Wiss. Abt. B. Biol. Wiss. 305.
Ranvier, 68. Technique microscopique. Journal de l'Anat.
—, **75.** Des préparations du tissu osseux avec le bleu d'aniline insoluble dans l'eau et soluble dans l'alcohol. Travaux Lab. Histol. p. 16—21.
—. **78.** Leçons sur l'histologie du système nerveux. Bd. 1, p. III und 1—352, 4 Taf., 20 Fig., und Bd. 2, 380 p., 8 Taf.
—, **80.** Leçons d'anatomie générale sur le système musculaire. p. 1—466, 99 Fig. Paris.
—, **81.** Leçons d'anatomie générale. Terminaisons nerveuses sensitives Cornée, p. XX, 447, 54 Fig. Paris.
—, **85.** Le foie. Journal de Micrographie.
—, **89.** Traité technique d'histologie. Paris, 2 éd.
—, **91.** Transformation in vitro des cellules lymphatiques en clasmatocytes. Journal de Micrographie. Tome 15.
Vom Rath, O., **95.** Zur Konservierungstechnik. An. An. Bd. 11, p. 280—288.
Rauber, A., **76.** Über die Stellung des Hühnchens im Entwicklungsplan. Engelmann.
Regaud, Cl., **10.** Études sur la structure des tubes séminifères et sur la spermatogénèse chez les mammifères. Arch. d'Anat. micr. Bd. 11, p. 291—431.
Regaud, Cl., et **Dubreuil,** G., **03.** Sur un nouveau procédé d'argentation des épithéliums au moyen de protargol. Bibl. anat. Suppl., C. R. de l'Assoc. des Anat.
Regaud, Cl., et **Policard,** A., **13.** Sur la signification de la rétention de chrome par les tissus en technique histologique au point de vue des lipoides et des mitochondries I. C. R. Soc. Biol. Paris. Bd. 74, p. 449—551.
Reich, F., **07.** Über den zelligen Aufbau der Nervenfaser auf Grund mikrohistiochemischer Untersuchungen. I. Teil. Journ. Psychol. Neurol. Bd. 8.
Reimann und **Unna, 12.** Die Verbesserung der Färbung durch Fixierung des Gewebes mit Chlorzink. Med. Klinik, Jahrgg. 8, Nr. 32.
Reinke, Fr., **94.** Zellstudien III. A. m. A. Bd. 44, p. 262, 283.
Renaut., J., **97** u. **99.** Traité d'histologie pratique. Tome II, fasc. 1. Paris 1897. Tome II, fasc. 2. Paris 1899.

Retterer, Ed., **06.** Des colorations intra-vitales et postvitales du tissu osseux. C. R. soc. biol. T. 60, p. 106—109.
Retzius, G., **84.** Das Gehörorgan der Wirbeltiere. 2. Bd. (Reptilien, Vögel und Säuger.) Stockholm.
Ribbert, 96. Über die Anwendung der von Mallory für das Zentralnervensystem empfohlenen Farblösung auf andere Gewebe. Zbl. Path. Bd. 7.
Rieckenberg. Mikrokosmos. Bd. 11.
Riese, H., **91.** Über die Technik der Golgischen Schwarzfärbung etc. Zbl. Path. Bd. 2, p. 497—519.
Röhmann, 08. Biochemie. Berlin.
Röse, C., **92.** Über die v. Kochsche Versteinerungsmethode. An. An. Bd. 7, p. 512—519.
—, **93.** Über die Zahnentwicklung der Krokodile. Morpholog. Arb. von G. Schwalbe. Bd. III, 2. H., p. 195—228.
Röthig, P., **00.** Über einen neuen Farbstoff namens »Kresofuchsin«. A. m. A. Bd. 56.
—, **04.** Handbuch der embryologischen Technik. Wiebaden.
—, **09.** Zur Darstellung der Zellgruppierungen im Zentralnervensystem. Folia neuro-biologica. Bd. 2, p. 385—388.
Rollett, A., **58.** Untersuchungen über die Struktur des Bindegewebes. Sitz.-Ber. math.-nat. Kl. Akad. Wiss. Wien. Bd. 30.
—, **71.** Von den Bindesubstanzen. Strickers Handbuch der Lehre von den Geweben. Leipzig.
—, **72.** Über die Hornhaut. Ebenda.
—, **85.** Untersuchungen über den Bau der quergestreiften Muskelfasern. Denkschr. Akad. Wien, math.-nat. Kl. Bd. 49, Abt. 1, p. 81—132 und Bd. 51, Abt. 1, p. 23—68.
—, **89.** Anatomische und physiologische Bemerkungen über die Muskeln der Fledermäuse in: Sitz.-Ber. Akad. Wiss. Wien. Bd. 98, 3. Abt. math.-nat. Kl. p. 169—183, 4 Taf.
Romeis, B., **11.** Die Architektur des Knorpels vor der Osteogenese und in der ersten Zeit derselben. A. Ent. Mech. Bd. 31, p. 387—422.
—, **12.** Ein verbesserter Kulturapparat für Explantate. Z. w. M. Bd. 29, p. 530—534.
—, **13.** Beobachtungen über die Plastosomen von Asc. meg. während der Embryonalentwicklung. A. m. A. Bd. 81, p. 129—182.
—, **14.** Ein Wässerungsapparat. Z. w. M. Bd. 31, p. 236—240.
—, **18.** Experimentelle Untersuchungen über die Wirkungen innersekret. Organe. Zeitschr. f. ges. exper. Mediz. Bd. 6, p. 101—288.
Rosenbaum, O., **13.** Über die Struktur der Grundsubstanz des Netzknorpels. Int. Mon. Anat. Physiol. Bd. 29, p. 264 bis 267.
Rosenthal, Werner, **00.** Über den Nachweis von Fett durch Färbung. Verh. deutsch. pathol. Ges. in Verh. d. Ges. deutscher Naturf. u. Ärzte. 71. Versammlung, München, 1899.

Rosin und **Bibergeil**, Eugen, **04.** Das Verhalten der Leukozyten bei der vitalen Blutfärbung. Virch. A. Bd. 178.
Rost, A., **04.** Monographie des Hämatoxylins. Diss. Bern.
Roth, A., **04.** Zur Kenntnis der Bewegung der Spermien. A. Anat. Physiol., Anat. Abt.
Rubaschkin, W., **04.** Studien über Neuroglia. A. m. A. Bd. 64.
—, **07.** Eine neue Methode zur Herstellung von Zelloidinserien. An. An. Bd. 31.
—, **10.** Chondriosomen und Differenzierungsprozesse bei Säugetierembryonen. Anal. H. Bd. 41, p. 401—431.
—, **12.** Zur Lehre von der Keimbahn bei Säugetieren. Über die Entwicklung der Keimdrüsen. Anat. Hefte Bd. 46, p. 345—411.
Rudberg, 07. Studien über Thymusinvolution. I. Die Involution nach Röntgenbestrahlung. An. An. Bd. 32, p. 123.
Rudnev, W., **07.** Über gleichzeitiges Fixieren etc. in einer ätheralkoholischen Zelloidinlösung etc. Z. w. M. Bd. 24, p. 243 bis 253.
Rückert, J., **92.** Zur Entwicklungsgeschichte des Ovarialeies bei Selachiern. An. An. Bd. 7.
Ruprecht, 96. Imprägnation der Knochenhöhlen und Knochenkanälchen. Z. w. M. Bd. 13.
Rynbeck, G. van, **06.** Über den durch Chromatophoren bedingten Farbwechsel der Tiere. Erg. Physiol. Bd. 5, p. 347 bis 571.
Salkind, 12. Zur Vereinfachung der histologischen Technik. Z. w. M. Bd. 29, p. 540—544.
Sand, R., **10.** Une méthode simple et élective de coloration des neurofibrilles et des cylindre-axes. C. R. Assoc. Anat. Bruxelles.
Sata, 00. Über das Vorkommen von Fett. Ziegl. Beitr. Bd. 27, p. 555—574.
Schaffer, J., **88.** Die Färberei zum Studium der Knochenentwicklung. Z. w. M. Bd. 5.
—, **93.** Die Methode der histologischen Untersuchung des Knochengewebes. Z. w. M. Bd. 10.
—, **93b.** Beiträge zur Histologie und Histogenese der quergestreiften Muskelfasern etc. Sitz.-Ber. Wien. Akad. Bd. 102. Abt. 3, p. 7—148.
—, **96.** Mikrotechnisches. Histologisches. Geschichte des Mikroskops. Wien. klin. Wochenschr. Jahrg. 1896, Nr. 45.
—, **99.** Zur Kenntnis der glatten Muskelzellen, insbesondere ihrer Verbindung. Z. w. Z. Bd. 66, p. 214—268.
—, **99b.** Eine einfache Vorrichtung zum raschen Entwässern histologischer Objekte. Z. w. M. Bd. 19.
—, **03** u. **10.** Knochen und Zähne in Enzykl. mikr. Techn.
—, **06.** Über den feineren Bau und die Entwicklung des Knorpelgewebes und über verwandte Formen der Stützsubstanzen. II. Teil. Z. w. Z. Bd. 80.

Schaffer, J., 08. Zur Histologie der Unterkieferspeicheldrüsen bei Insektivoren. Z. w. Z. Bd. 89, p. 1—27.
—, **14.** Kleinere histologische Mitteilungen. 3. Über eine isolierte Färbung der Haarcuticula. Verh. anat. Ges., p. 99 bis 101.
—, **17.** Beitr. zur Histologie menschlicher Organe. VIII. Glandula bulbo-urethralis und vestibularis maior. Sitzgsber. k. Akad. Wiss. Wien 126, p. 27—45.
—, **18.** Veränderungen an Gewebselementen durch einseitige Wirkung der Fixierungsflüssigkeit und Allgemeines über Fixierung. An. An. Bd. 51, p. 353.
Scheffer, W., 11. Wirkungsweise und Gebrauch des Mikroskops. Leipzig. 113 p., 89 Abb.
Schiefferdecker, P., 82. Über die Verwendung des Zelloidins in der anatomischen Technik. A. Anat. Physiol., Anat. Abt.
—, **86.** Methode zur Isolierung von Epithelzellen. Z. w. M. Bd. 3.
Schlemmer, A., 10. Über die Herstellung der ammoniakalischen Silbersalzlösung bei der Imprägnationsmethode Bielschowskys. Z. w. M. Bd. 27, p. 22.
Schmidt, F. W., 10. Die Aufhebung der Formalin-Härtung etc. Z. w. M. Bd. 27, p. 214—218.
Schmidt, W. J., 10. Studien am Integument der Reptilien I. Z. w. Zool. Bd. 99.
—, **13.** Studien usw. IV. Zool. Jahrb. anat. Abt. Bd. 36, p. 377—464.
—, **14.** V. Ebenda Bd. 38, p. 1—102.
—, **17.** Die Chromatophoren der Reptilienhaut. A. m. A. Bd. 90 I, p. 98—259.
—, **18.** Zur Kenntnis der hipochromführenden Farbzellen in der Haut nach Untersuchungen an Salam. mac. Derm. Zeitschr. Bd. 25, p. 324—328.
—, **18.** Über die Methoden zur mikroskopischen Untersuchung der Farbzellen und Pigmente in der Haut der Wirbeltiere. Z. w. M. Bd. 35, p. 1—43.
Schmidt, Gustav, 06. Über die Resorption von Methylenblau durch das Darmepithel. Pflüg. A. Bd. 113.
Schmincke, A., 16. Über die normale und pathologische Physiologie der Milz. Münch. Med. Woch. Heft 28, 29, 30 u. 31.
Schmorl, G., 18. Die pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden. 8. Aufl. Leipzig.
Schneider, H., 14. Über die Unnaschen Methoden zur Feststellung von Sauerstoff- und Reduktionsorten und ihre Anwendung auf pflanzliche Objekte. Z. w. M. Bd. 31, p. 51 bis 69.
—, **14.** Neue Studien zur Darstellung der Reduktions- und Sauerstofforte der Pflanzenzelle. Z. w. M. Bd. 31, p. 478 bis 491.
Schridde, H., 10. Methoden zur Fixierung und Einbettung von embryologischem Material. Z. w. M. Bd. 27, p. 360—365.

Schridde, H., und **Nägeli,** O., **10.** Die hämatologische Technik VI, 135 p. Jena.
Schuberg, A., **03.** Untersuchungen über Zellverbindungen. Z. w. Z. Bd. 74.
—, **09.** Über die Färbung von Schnittpräparaten mit der Giemsaschen Azur-Eosin-Methode. Deutsche med. Wochenschrift p. 2106.
—, **10.** Zoolog. Praktikum Bd. I. Leipzig.
Schueninoff, S., **08.** Eine Fibrintinktionsmethode. Zbl. Path. Bd. 19.
Schütz, 08. Die Silberimprägnation der Neurofibrillen nach Bielschowsky. Neurol. Zbl. p. 909—911.
Schuhmacher, S. v., **12.** Bau, Entwicklung und systematische Stellung der Blutlymphdrüsen. A. m. A. Bd. 81, p. 92 bis 150.
Schuhmann, A. Das Kaninchen, Kosmos. Stuttgart.
Schulemann, W., **17.** Die vitale Färbung mit sauren Farbstoffen in ihrer Bedeutung für Anatomie, Physiologie, Pathologie und Pharmakologie. Biochem. Zeitschr. Bd. 80, p. 1 bis 142.
Schultze, M., **64.** Die Anwendung mit Jod konservierter tierischer Flüssigkeiten als mazerierendes und konservierendes Mittel bei histolog. Untersuch. Virch. A. Bd. 30, p. 263 bis 265.
—, **65.** Ein heizbarer Objekttisch und seine Verwendung bei Untersuchungen des Blutes. Arch. m. A. Bd. 1.
—, **71.** Essigsaures Kali zum Aufbewahren mikroskopischer Präparate. A. m. A. Bd. 7.
— und **Rudneff,** M., **65.** Weitere Mitteilungen über die Einwirkung der Überosmiumsäure auf tierische Gewebe. A. m. A. Bd. 1.
Schultze, O., **87.** Untersuchungen über Reifung und Befruchtung des Amphibieneies. Z. w. Z. Bd. 45.
—, **97.** Grundriß der Entwicklungsgeschichte des Menschen und der Säugetiere. Leipzig.
—, **99.** Über das erste Auftreten der bilateralen Symmetrie im Verlauf der Entwicklung. A. Anat. Entw. Bd. 55, p. 171 bis 230. Mit T. XI und XII und 2 Textfig.
—, **04.** Über Stückfärbung mit Chromhämatoxylin. Z. w. M. Bd. 21.
—, **06.** Über den frühesten Nachweis der Markscheidenfärbung im Nervengewebe. S.-Ber. phys.-med. Ges. Würzburg.
—, **07.** Über den Bau und die Bedeutung der Außencuticula der Amphibienlarven. A. m. A. Bd. 69.
—, **10a.** Neue Methoden der histologischen, aufhellenden und korrodierenden Technik etc. Verh. physik.-med. Ges. Würzburg. N. F. Bd. 40, Nr. 7, p. 157—168.
—, **10b.** Über die Anwendung der Osmiumsäure und eine neue Osmiumhämatoxylinmethode. Z. w. M. Bd. 27, p. 465—475.

Schultze, O., **12.** Über den direkten Zusammenhang der Muskelfibrillen und Sehnenfibrillen. Verh. phys.-med. Ges. Würzburg. N. F. Bd. 41. A. m. A. Bd. 79.
—, **11.** Über den direkten Zusammenhang von Muskelfibrillen und Sehnenfibrillen. A. m. A. Bd. 79, p. 307—331.
—, **18.** Neues zur mikroskopischen Untersuchung des Zentralnervensystems. Sitzgsber. Physikal. med. Ges. Würzburg. 1—5.
Schultze, W. H., Zur Technik der Oxydasereaktion. Zbl. Path. Bd. 28.
—, **09.** Ziegl. Beitr. Bd. 45.
—, **17.** Über das Paraphenylendiamin in der histologischen Farbetechnik und über eine neue Schnellfärbemethode der Nervenmarkscheiden am Gefrierschnitt. Zbl. Path. Bd. 36, p. 639—640.
Schulze, F. E., **71.** Die Lungen. Strickers Handbuch der Lehre von den Geweben. Leipzig.
Schwalbe, E., **01.** Technische Bemerkungen zur Karminfärbung des Zentralnervensystems. Zbl. Path. Bd. 12.
Schweigger-Seidel, F., **65.** Die Nieren des Menschen und der Säugetiere in ihrem feineren Baue, p. 1—92, 4 Taf. Halle.
Seligmann, S., **99.** Die mikroskopischen Untersuchungsmethoden des Auges.
—, **07.** Die Vorbereitung des Gehörorgans für die mikroskopisch pathologische Untersuchung. Frankfurter Zeitschr. Pathol. Bd. 1, 1907, H. 2, p. 373—376.
Siedentopf, H., **08.** Über mikroskopische Beobachtungen bei Dunkelfeldbeleuchtung. Z. w. M. Bd. 25, p. 273—282.
—, **09.** Über ultramikroskopische Abbildung. Z. w. M. Bd. 26, p. 391—410.
—, **12.** Über ultramikroskopische Abbildung linearer Objekte. Z. w. M. Bd. 29, p. 1—47.
—, **15.** Über das Auflösungsvermögen der Mikroskope bei Hell- und Dunkelfeldbeleuchtung. Z. w. M. Bd. 32, p. 1—42.
Simons, H., **15.** Histologische und chemische Untersuchungen über Chromoform. Z. w. M. Bd. 32, p. 379—393.
Sjöbring, U., **00.** Über das Formol als Fixierungsflüssigkeit. An. An. Bd. 17, p. 273—304.
Sjövall, E., **05.** Über Spinalganglienzellen und Markscheiden. Zugleich ein Versuch, die Wirkungsweise der Osmiumsäure zu analysieren. Anat. Hefte, 91. Heft.
Sitsen, A. E., **05.** Erfahrungen über Azeton-Paraffin-Einbettung. Zbl. Path. Bd. 16.
Skraub, S., **16.** Über Vitalfärbung mit einfachsten Farbstoffen und ihre Fixierung. Ber. deutsch. chem. Ges. Bd. 49, p. 2142—2154.
—, **17.** Über Vitalfärbung mit einfachsten Farbstoffen und ihre Fixierung. Sitzgsber. physik.-med. Ges. Würzburg. 9—16.
Smith, J. L., **06.** Journ. Pathol. and Bacteriol. V. 11, p. 410.

Skrobansky, 04. Eine Methode der nachträglichen Färbung mit Bleu de Lyon und Pikrinsäure. Int. Mon. Anat. Physiol. Bd. 21, p. 21—22.
Snessarew, P., 10. Über die Modifizierung der Bielschowskyschen Silbermethode etc. An. An. Bd. 36, p. 401—411.
Sobotta, E., 95. Die Befruchtung und Furchung des Eies der Maus. A. m. A. Bd. 45, p. 15—93.
Solger, B., 83. Über die Einwirkung des Wasserstoffhyperoxydes auf tierische Gewebe. Zentralbl. f. d. med. Wiss.
—, **89a.** Kohlensaurer Ammoniak, ein Mittel zur Darstellung des Sarkolemmas. Z. w. M. Bd. 6.
—, **89b.** Zur Struktur der Pigmentzelle. Zool. Anz. 12. Jahrg.
—, **93.** Zur Kenntnis osmierten Fettes. An. An. Bd. 8.
—, **96.** Über den feineren Bau der Glandula submaxillaris des Menschen, mit besonderer Berücksichtigung der Drüsengranula. Festschr. 70. Geb. v. Gegenbaur. Bd. 2, p. 179 bis 248.
Spalteholz, W., 04. Mikroskopie und Mikrochemie. Leipzig.
—, **03 u. 10.** 10 Artikel »Verdauung, künstliche, Enz. mikr. Techn. Bd. 2 p. 570—587.
—, **11.** Über das Durchsichtigmachen von menschlichen und tierischen Präparaten. Leipzig.
Spee, Graf F., 85. Leichtes Verfahren zur Erhaltung linear geordneter lückenloser Schnittserien mit Hilfe von Schnittbändern. Z. w. M. Bd. 2.
—, **87.** Über die ersten Vorgänge der Ablagerung des Zahnschmelzes. An. An. 2. Jahrg.
Spemann, H., 18. Über die Determination der ersten Organanlagen des Amphibienembryo. A. Entw. mech. Bd. 43, p. 448—555.
Spielmeyer, W., 14. Technik der mikroskopischen Untersuchung des Nervensystems. 2. Aufl. Berlin, Springer.
Spuler, A., 01. Über eine neue Stückfärbemethode. Deutsche med. Woch. Bd. 27.
—, **03 u. 10.** Artikel Sublimat. Enzykl. d. mikrosk. Technik. 2. Aufl., Bd. 2, p. 517—528.
Srdinko, O. V., 05. Eine sich. Methode z. Differenz. d. Rinden- und Markelemente in d. Nebenniere. An. An. Bd. 26.
Ssobolew, L. W., 99. Zur Technik der Safraninfärbung. Z. w. M. Bd. 16, p. 196—220.
Stauffacher, 14. Zellstudien. I. Bemerkungen zu den Methoden der modernen Zellforschung. Z. w. Z. Bd. 109, p. 423.
Steckelmacher, S., 18. Versuche mit vitaler Doppelfärbung. Frankf. Z. Pathol. Bd. 21, p. 1—25.
Steinach, 87. Siebdosen, eine Vorrichtung zur Behandlung mikroskop. Präparate. Z. w. M. Bd. 4, p. 433.
Steppes, R., 18. Gewinnbringende Meerschweinchenzucht. Berlin.
Stern, S., 05. Über Sehpurpurfixation. Arch. Ophth. Bd. 61.
Stieve, H., 13. Sitz. Ges. Morph. Phys. München.

Stieve, L., **18.** Über experimentell, durch veränderte äußere Bedingungen erzeugte Rückbildungsvorgänge am Eierstock des Haushuhnes. A. Ent. Mech. Bd. 44, p. 530—588.
—, **18.** Die Entwicklung der Eierstockeier der Dohle. A. m. A. Bd. 92, II, p. 137—288.
—, **18.** Die Spermatogenese des Grottenolmes. An. An. Bd. 51, p. 321—349.
Stintzing, R., **99.** Zur Struktur der Magenschleimhaut. Festschrift für v. Kupffer, p. 53—56.
Stöhr, Ph., **94** und **98.** Lehrbuch der Histologie. 6. Aufl. 1894 und 8. Aufl. 1898. 17. Aufl. 1918 von O. Schultze. Jena, G. Fischer.
Stöltzner, 05. Über Metallfarben im verkalkten Gewebe. Virch. A. Bd. 180.
Stöltzner, Helene, **06.** Der Einfluß der Fixierung auf das Volumen der Organe. Z. w. M. Bd. 23.
Strasburger, E., **05.** Histologische Beiträge zur Vererbungsfrage. Jahrbücher f. wiss. Botanik Bd. 42.
Strasser, H., **86.** Über das Studium der Schnittserien und über die Hilfsmittel, welche die Rekonstruktion der zerlegten Form erleichtern. Z. w. M. Bd. 3.
Strasser, H., **87.** Über die Methoden der plastischen Rekonstruktion. Z. w. M. Bd. 4.
Streeter, G. L., **03.** Über die Verwendung der Paraffineinbettung bei Markscheidenfärbung. A. m. A. Bd. 62.
Studnička, F. K., **06/07.** Über die Anwendung von Bielschowsky zur Imprägnation von Bindegewebsfibrillen im Knochen, Dentin- und Hyalinknorpel. Z. w. M. Bd. 23.
Stumpf, 11. Zur Histologie der Neurohypophyse. Virch. A. Bd. 206, p. 70—79.
Stuurman, F. J., **15.** Die Herstellung und Färbung von Serienpräparaten der Gehirne kleiner Tiere. Z. w. M. Bd. 32, p. 152—159.
Suzuki, T., **09.** Eine einfache Schnittserienmethode bei der Celloidineinbettung. An. An. Bd. 34, p. 358—361.
—, **12.** Zur Morphologie der Nierensekretion unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. G. Fischer, Jena.
Szent-Györgyi, A., **14.** Die histologische Darstellung des Glaskörpers. Z. w. M. Bd. 31, p. 23—35.
Szombathy, K., **17.** Neue Methode zum Aufkleben von Paraffinschnitten. Z. w. M. Bd. 34, p. 334—336.
Szüts, A. v., **14.** Eine neue Hämatoxylinlösung. Z. w. M. Bd. 31, p. 17—18.
Tandler, J., **01.** Mikroskopische Injektionen mit kaltflüssiger Gelatine. Z. w. M. Bd. 18.
Tappeiner, H., **90** und **99.** Lehrbuch der Arzneimittellehre und Arzneiverordnungslehre. Leipzig 1890, 3. Aufl. 1899.
Tellyesniczky, K. von, **98.** Über die Fixierungs- (Härtungs-) Flüssigkeiten. A. m. A. Bd. 52, p. 202—247, T. 52.

Tellyesniczky, K. von, **02.** Fixation im Lichte neuerer Forschungen. Ergebnisse der Anat. und Entwicklungsgesch. Bd. 11.
—, **02a.** Zur Kritik der Kernstrukturen. A. m. A. Bd. 60.
—, **05.** Ruhekern und Mitose. A. m. A. Bd. 66.
Terni, T., **14.** Condriosomi, idiozoma e formazioni periidiozomiche nella spermatogenesi degli Anfibii. Arch. Zellf. Bd. 12, p. 1—96.
Thies, 05. Wirkung der Radiumstrahlen auf verschiedene Gewebe und Organe. Mitt. aus d. Grenzgebiet. Med. u. Chir. Bd. 14.
Thoma, 94. Ein Apparat zum raschen Fixieren und Härten von Gewebsteilen. Z. w. M. Bd. 19, p. 333.
Tillmanns, H., **74.** Beiträge zur Histologie der Gelenke. A. m. A. Bd. 10.
Timofejew, D., **09.** Eine neue Färbungsmethode des Stützgewebes etc. An. An. Bd. 35, p. 295—301.
Tobler, 09. Fehlergröße einiger Fixierungsmethoden und Quellung einer Algenmembran. Z. w. M. Bd. 26, p. 51.
Traina, H., **09.** Eine neue und einfache Methode zur Bindegewebsfärbung. Zbl. Path. Bd. 20, Nr. 23.
—, **10.** Über eine Struktureigentümlichkeit des Schilddrüsenepithels. An. An. Bd. 35, p. 554—556.
Trautmann, A., **11.** Zur Kenntnis der Panethschen Körnchenzellen bei den Säugetieren. A. m. A. Bd. 76, p. 288.
Triepel, H., **18.** Über ein neues Modellierverfahren. Z. w. M. Bd. 35, p. 89—94.
Tschaschin, S., **13.** Über die ruhenden »Wanderzellen« und ihre Beziehungen zu den anderen Zellformen des Bindegewebes und zu den Lymphocyten. Fol. haem. Bd. 17, p. 317—397.
Uhlenhut, E., **14.** The cultivation of the Skin Epithelium of the Adult Frog Rana pipiens Journ. Exp. Med. Bd. 20. p. 614—635.
Unna, P. G., **91.** Notiz, betreffend die Tänzersche Orzeinfärbung des elastischen Gewebes. Mon. prakt. Dermat. Bd. 12, p. 394—396.
—, **91.** Über die Reifung unserer Farbstoffe. Z. w. M. Bd. 8.
—, **98.** Der Nachweis des Fettes in der Haut durch sekundäre Osmierung. Mon. prakt. Dermat. Bd. 26, p. 601—613.
—, **05.** Die Darstellung der sauren Kerne im normalen und patholog. Gewebe. Mon. prakt. Dermatol. Bd. 41.
—, **10.** Plasmazellen. Enzykl. mikr. Technik. 2. Aufl., p. 744.
—, **10a.** Histotechnik der leprösen Haut. Hamburg-Leipzig.
—, **11.** Die Reduktionsorte und Sauerstofforte des tierischen Gewebes. A. m. A. Bd. 78.
—, **13.** Biochemie der Haut. Jena.
—, **14.** Brief an den Herausgeber. Z. w. M. Bd. 31, p. 296 bis 299.
—, **14.** Eine gute Doppelfärbung für gewöhnliche und saure Kerne. Z. w. M. Bd. 31, p. 289—295.

Unna, P. G., **15a.** Die Sauerstofforte und Reduktionsorte. Eine histohcemische Studie. A. m. A. Bd. 87, p. 96—150.
Unna, P. G., u. **Gans,** O., **14.** Zur Chemie der Zelle IV. Die Nissl-Körper. Berl. Klin. Woch. Nr. 10.
Unna, P. G., u. **Golodetz, 17.** Neutralviolett extra. A. m. A. Bd. 90, I, p. 69—97.
Vastarini-Cresi, 09. Ulteriori ricerche sopra un nuovo metodo di colorazione del glicogeno nei tessuti. Atti R. Accad. med. chir. di Napoli 1—22.
—, **15.** Chiasma gustativo nella lingua dell' uomo e di alcuni mammiferi. Int. Mon. Anat. Physiol. Bd. 31, p. 380—410.
Verocay, J., **08.** Beseitigung der »Formolniederschläge« aus mikroskopischen Schnitten. Zbl. Path. Bd. 19, H. 19.
—, **08.** Über ein neues Verfahren zur Färbung des Bindegewebes. Verh. Ges. D. Naturf. u. Ärzte, 80. Vers., Cöln II, 2, p. 52—55.
Virchow, H., **85.** Über die Einwirkung des Lichtes auf Gemische von chromsauren Salzen, Alkohol und extrahierten organischen Substanzen. A. m. A. Bd. 24 p. 117—119.
Vonwiller, P., **15.** Die Sphäroplasten von Amoeba proteus. An. An. Bd. 48, p. 485—488.
—, P., **18.** Über den Bau des Plasmas der niedersten Tiere.
Waldeyer, W., **82.** Untersuchungen über die Histogenese der Horngebilde, insbesondere der Haare und Federn. Beiträge zur Anat. u. Embryol. als Festgabe f. J. Henle. Bonn.
Wallart, J., **06.** Über gleichzeitige Darstellung von Fettkörnern, eisenhaltigem Pigment und Zellkernen in Gefrierschnitten. Münch. med. Woch., 45.
Walsem, G. C. van, 94. Beitrag zur Technik des Schneidens und der weiteren Behandlung der Paraffinschnittbänder. Z. w. M. Bd. 11, p. 207.
—, **16.** Die Thermoregulierung beim Paraffinbänderschneiden. Z. w. M. Bd. 33, p. 26—29.
Walter, K., **17.** Sind die Sommerzellen in der Nebenniere des Frosches acidophil? A. m. A. Bd. 89, p. 245—247.
Weidenreich, Fr., **06.** Weitere Mitteilungen über rote Blutkörperchen. A. m. A. Bd. 69.
—, **08.** Beiträge zur Kenntnis der granulierten Leukocyten. A. m. A. Bd. 72.
—, **05.** Studien über das Blut und die blutbildenden und -zerstörenden Organe. II. Bau und morphologische Stellung der Blutlymphdrüsen. A. m. A. Bd. 65. p. 1—77.
Weigert, C., **78.** Bismarckbraun als Färbemittel. A. m. A. Bd. 15.
—, **85.** Über Schnittserien von Celloidinpräparaten des Zentralnervensystems zum Zwecke der Markscheidenfärbung. Z. w. M. Bd. 2, p. 490—495.
—, **86.** Über Aufhellung der Schnittserien aus Celloidinpräparaten. Ges. Abh. Bd. II, p. 562.
—, **91.** Zur Markscheidenfärbung. Deutsche med. Woch. Nr. 42, p. 9.

Weigert, C., **94.** Technik. Erg. Anat. Entw. Bd. 3.
—, **95.** Beiträge zur Kenntnis der normalen menschl. Neuroglia. Festschr. 50jähr. Jub. ärztl. Ver. zu Frankfurt a. M.
—, **96.** Die Golgische Methode. Erg. Anat. Entw. Bd. 5.
—, **97.** Die Markscheidenfärbung. Erg. Anat. Entw. Bd. 6.
—, **98.** Die Marchische Methode. Erg. Anat. Entw. Bd. 7.
—, **98.** Über eine Methode zur Färbung elastischer Fasern. Zbl. Path. Bd. 9, p. 289—292.
—, **04.** Eine kleine Verbesserung der Hämatoxylin-van-Gieson-Methode. Z. w. M. Bd. 21.
Weill, P., **19.** Über die leukocytären Elemente der Darmschleimhaut der Säugetiere. A. m. A. Bd. 93, I, p. 1—81.
Weinschenk, E., **03.** Anleitung zum Gebrauch des Polarisationsmikroskops. Freiburg i. B.
Weismann, A., **61.** Über das Wachsen der quergestreiften Muskeln nach Beobachtungen am Frosche. Zeitschr. f. ration. Med. 3. Reihe. Bd. 10, p. 263—284.
Weiß, E., **15.** Beobachtung und mikrophotographische Darstellung der Hautkapillaren am lebenden Menschen. D. A. klin. Med. Bd. 119.
—, **18.** Über Beobachtung der Hautkapillaren und ihre klinische Bedeutung. Wien. klin. Woch. Bd. 31, p. 41—43.
Weltmann, O., **13.** Über das doppeltbrechende Lipoid der Nebenniere. Ziegl. Beitr. Bd. 56, p. 278—324.
Wentscher, 98 u. **03.** Ziegl. Beitr. Bd. 24, p. 101 ff. und Bd. 34, p. 410 ff.
Wernecke, F., **16.** Die Pigmentierung der Farbenrassen von Mus musculus und ihre Beziehung zur Vererbung. A. Ent. Mech. Bd. 42, p. 72—106.
Werzberg, A., **11.** Studien zur vergleichenden Hämozytologie einiger poikilothermer Vertebraten mit besonderer Berücksichtigung der Thrombocyten. Fol. haem. Bd. 11, p. 17—193.
Wicklein, E., **91.** Untersuchungen über den Pigmentgehalt der Milz bei verschiedenen physiol. und pathol. Zuständen. Virch. A. Bd. 124, p. 1.
Wiener, A., **16.** Beitrag zum mikrochemischen Nachweis des Eisens in der Pflanze, insbesondere des maskierten. Biochem. Zeitschr. Bd. 77, p. 27—50.
Wieser, W. v., **12.** Ein Durchspülungsapparat zur Fixierung ganzer Tiere. Z. w. M. Bd. 29, p. 535—539.
Wiesel, J., **02.** Beiträge zur Anatomie und Entwicklung der menschlichen Nebenniere. Anat. Hefte Bd. 19, p. 481.
Winiwarter, H. v., und **Sainmont,** G., **08.** Erfahrungen über die Flemmingsche Dreifärbung. Z. w. M. Bd. 25, p. 157—162.
Winkler, L. W., **05.** Die Darstellung reinen Äthylalkohols. Ber. deutsch. chem. Ges. Bd. 38, p. 3612.
Wittmaack. Zur histo-pathologischen Untersuchung des Gehörorgans etc. Zeitschr. f. Ohrenheilkunde Bd. 51.
Wolff, Elise, **02.** Beobachtungen bei der Färbung der elastischen Fasern mit Orzein. Zbl. Path. Bd. 13.

Wolff, Max, **02.** Über die Ehrlichsche Methylenblaufärbung etc. A. Anat. p. 155—188.
—, **05.** Neue Beiträge zur Kenntnis des Neurons. Biol. Zbl. Bd 5.
Wolfrum, 05. Celloidintrockenmethode. Klin. Monatsblätter für Augenheilkunde. 43. Jahrg.
Wolters, M., **90.** Drei neue Methoden zur Mark- u. Achsenzylinderfärbung mittels Hämatoxylin. Z. w. M. Bd. 7.
Woronin, 98. Eine neue histologische Methode. Arbeiten aus d. therap. Klinik von P. M. Popoff. Moskau. (Russisch.)
Wychgram, E., **11.** Über Mikrophotographie in natürlichen Farben. Z. w. M. Bd. 28, p. 174—182.
Zaccarini, G., **10.** Gleichzeitige Färbung des Glykogens und des Fettes in den Rippenknorpeln. Zbl. Path. Bd. 21.
Zacharias, 10. Progr. rei botan. 124.
Zaretzky, 10. Versuche über vitale Färbung des Embryo. Virch. A. Bd. 201.
Zenker, K., **94.** Chromkali-Sublimat-Eisessig als Fixierungsmittel. Münch. med. Woch. Jahrg. 41, p. 532—534.
Ziegler, H. E., **02.** Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der niederen Wirbeltiere. Jena.
Ziegler, P., **99.** Ein Beitrag zur Technik der histologischen Untersuchung des Knochens. Festschrift zum 70. Geburtstag v. Kupffers, p. 49—52.
Zieglwallner, Fr., **11.** Über die Fixierung und Färbung des Glykogens und die mikr. Darstellung desselben gleichzeitig neben Fett. Z. w. M. Bd. 28, p. 152—157.
—, **13.** Nachtrag zum Aufsatz: Über die Fixierung und Färbung von Glykogen und die mikroskopische Darstellung desselben gleichzeitig neben Fett. Z. w. M. Bd. 30, p. 72.
Zieler, Karl, **06.** Zur Darstellung der Leukozytenkörnelungen sowie der Zellstrukturen und der Bakterien in Geweben. Zbl. Path.
Zilliacus, W., **05.** Utbredningen af skif och cylinderepithel i människans struphufrud under olika åldrar. Helsingfors. Ref. von Kolster: Zentralbl. f. norm. Anat. u. Mikrotechn.
Zimmermann, A., **95.** Das Mikroskop. Ein Leitfaden der wiss. Mikr. Leipzig und Wien.
—, **08.** Über die Anwendung der Methode von Bielschowsky zur Darstellung der Bindegewebsfibrillen. Z. w. Z. Bd. 25, p. 8—13.
Zimmermann, K. W., **89.** Verh. Anat. Ges., Berlin.
—, **98.** Beiträge zur Kenntnis einiger Drüsen und Epithelien. A. m. A. Bd. 52, p. 552—706.
Ziveri, A., **12.** Über die Natur der lipoiden Abbaustoffe des Zentralnervensystemes in einigen pathologischen Zuständen. Fol. neurobiol. Bd. 6, p. 719—745.
Zürn, J., **02.** Vergleichend histologische Untersuchung über die Retina und Area centralis retinae der Haussäugetiere. A. Anat., Supplementband.

Autoren-Register.

§§

Abbe 13, 17, 21, 26, 34, 504.
Achard 665.
Achûcarro 80, 808, 879, 931, 1105, 1145, 1191, 1221, 1242, 1272.
Adler 1241.
Agduhr 807, 931, 976.
Alexander 852.
Alfieri 623.
Altmann 289, 294, 531, 537, 543, 555, 565, 567, 731, 812, 1091, 1092, 1131, 1363, 1414, 1416.
Alzheimer 957, 1025, 1271.
Ambronn 34.
Anitschkow 289, 294, 296.
Apáthy v. 34, 92, 104, 182, 201, 214, 217, 219, 225, 229, 232, 236, 238, 239, 240, 242, 244, 245, 251, 269, 282, 283, 293, 350, 419, 424, 454, 477, 481, 503, 588, 979.
Arima 1158.
Arnold 450, 457, 599, 683.
Artom 1412, 1414.
Asai 902.
Asschoff 450, 743.
Aßmann 716.
Attias 1360.
Auerbach 1150.
Aynaud 665.

Babes 395.
Ballowitz 626, 635, 642, 1249.
Balter 1061
Bang 90, 546.
Barfurth 1437, 1439.
Bartel 1017.
Bartels 1094.
Bastian 906.
Baumgarten 429.
Bechholdt 316.
Becker 263.
Behr 1384.
Bell 591.

§§

Benda 417, 550, 523, 525, 731, 820, 1019, 1174.
Beneke 855, 747, 1418.
Beneden von 1406.
Bensley 544, 553, 554.
Berg 90, 1178.
Berkley 1197.
Berner 507.
Bethe 92, 316, 454, 977, 993, 1045, 1047, 1063.
Biedermann 622, 1131.
Bielschowsky 801, 802, 805, 806, 807, 865, 879, 931, 982, 983, 984, 1062, 1097, 1105, 1145, 1150, 1191, 1221, 1242, 1271, 1397.
Billroth 1109.
Biondi 436, 729, 1011, 1251, 1409.
Björkenheim 559, 777.
Bleibtreu 597.
Bloch 609, 629.
Blochmann 1439.
Blum 90, 142.
Boehm 1100, 1109, 1186, 1214, 1218, 1327, 1419, 1425.
Boehmer 354, 526, 598, 825, 1146.
Boeke 1039, 1341, 1426.
Bokey 841.
Bonney 529.
Born 41, 110, 561, 1431.
Botezat 1134.
Bouin 88, 163, 165, 399, 1217, 1252, 1266, 1343, 1419, 1492.
Boveri 1401.
Bormann 904, 905.
Braus 21, 1187, 1414.
Bremer 1050.
Brodersen 822.
Browicz 143.
Brown 656.
Brühl 1397.
Brunk 112.
Brunner 1144.

§§

Buchner 1226, 1403.
Buerker 691, 756.
Burchardt 129.
Burrows 67, 69, 84.
Busch 887.
Buzzi 1303.

Cajal Ramon y 139, 425, 557, 864, 960, 967, 983, 988, 989, 1271, 1341, 1381, 1382, 1402.
Carazzi 229, 296, 634.
Carlini 1365.
Carnoy 88, 113, 118, 780, 950, 952, 958, 991, 1220, 1409, 1431, 1441.
Carrel 67, 79, 81, 82, 83.
Carrière 1337.
Casella 612.
Cesaris-Demel 459.
Champy 540, 1132.
Chatin 852.
Chittenden 1033.
Chrzonszczewsky 1183.
Ciaccio 588, 590, 591, 1273, 1278, 1353.
Coca 783.
Coccius 699.
Cohnheim 754, 906.
Cohnstein 681.
Corning 973.
Corti 1387, 1392, 1396.
Cowdry 544, 554, 952, 958, 991.
Cox 970, 1218.

Daddi 575.
Dantschakoff 288.
Davidoff 1218.
Deetjen 49, 87 865.
Deineka 864.
Delafield 351, 526, 626 642, 1441.
Delamare 426.
Demel 859.
Descemet 1352, 1360.
Dietrich 592,
Dippel 34.

§§
Dogiel 450, 1043, 1047, 1341, 1349.
Doleris 439.
Dominici 440, 739, 1097, 1114, 1162, 1266, 1271, 1385, 1468, 1493.
Donaggio 978, 1011.
Doyon 547.
Drasch 1472.
Dreser 1383.
Dreuw 1341.
Drühner 21.
Dubreuil 541.
Duesberg 550.
Dürck 995, 1072.

Ebner v. 849, 855, 860, 872, 875, 889, 895, 896, 1164.
Edinger 27.
Ehrlich 343, 353, 386, 420, 436, 450, 453, 455, 519, 526, 598, 698, 725, 729, 825, 1043, 1063, 1136, 1251, 1409.
Ellenberger 1149.
Engelmann 1373.
Eppinger 1188.
Erlanger 1410.
Erlicki 130, 131.
Ewald 772, 779, 886, 902.
Ewert 1298.

Falk 94.
Fairchild 108.
Falkenberg 646.
Fichera 1124.
Fieandt 1024, 1267.
Fischel 450, 461.
Fischer A., 91, 115, 140, 156, 316, 1049, 1059.
Fischer B., 817.
Fischler 584.
Flechsig 1006.
Fleischl 1034.
Flemming 91, 125, 126, 127, 153, 157, 158, 159, 326, 392, 394, 398, 399, 519, 522, 528, 570, 571, 782, 854, 892, 1095, 1114, 1129, 1130, 1168, 1200, 1231, 1253, 1259, 1264, 1272, 1277, 1343, 1349, 1371, 1391, 1412, 1426, 1464, 1498.
Flesch 842.
Flint 788, 1103.
Fol 127.
Forel 976.
Frank 1131.
Franke 1446, 1430.
Fränkel 1007.
Frederici 210.
Frederiksen 812.
Freeborn 790.

§§
Freidenfeld 454.
Friedberger 390.
Friedenthal 195.
Friedländer 352.
Frisch 1219.
Frommann 1031.
Froriep 902, 927.
Fuchs 626.
Fürst 630.

Gabritschewsky 83.
Gad 1061.
Gaidukoff 18.
Gans 954.
Gariaeff 977.
Garnier 94, 1212.
Garten 34.
Gaskell 1278.
Gebhardt 18, 30, 32, 887.
Gelei 603.
Gerlach 975.
Germer 90.
Gerota 1094.
Gianuzzi 1162.
Giemsa 386, 445, 696, 705, 709, 716, 717, 718, 739, 1097, 1173, 1251, 1260, 1286, 1287, 1319.
Gieson van 415, 417, 418, 795, 816, 1022,
Gilson 187, 924, 1333.
Goetsch 863.
Goldmann 450, 465.
Goldscheider 1340.
Goldschmidt 76, 94, 1212.
Golgi 144, 560, 864, 959, 962, 965, 986, 972, 974, 977, 1054, 1056, 1126, 1212, 1271, 1401.
Golodetz 586.
Grabower 1050.
Graeff 606.
Gram 467, 1254, 1298.
Grandis 651.
Grandry 1336.
Gref 1385.
Grenacher 336.
Greschik 1105, 1331.
Griesmann 902.
Gros v. 987.
Groß 512.
Grosser 1089.
Grosso 455.
Grünhagen 1133.
Grünwald 696, 706, 714, 718, 1097.
Günther-Wagner 1090.

Haecker 1226, 1236, 1406.
Haën 392.
Hall 674.
Hamburger 1090.
Hammar 1274.
Hammer 517.

§§
Hansen 144, 152, 355, 365, 388, 796, 829, 830, 880, 1145, 1271.
Harder 1385.
Hári 1136.
Harrison 69.
Hauschild 1385.
Haug 858.
Hauser 298.
Hayem 684, 756.
Heidenhain M. 155, 176, 181, 191, 192, 193, 210, 316, 323, 357, 358, 368, 381, 393, 437, 519, 530, 535, 781, 785, 789, 813, 835, 909, 910, 911, 912, 925, 1024, 1026, 1177, 1212, 1311.
Heidenhain R. 369, 437, 1124, 1127, 1142, 1216.
Heider 1403.
Heinecke 1101.
Held 931, 952, 958, 1022, 1095, 1217, 1252, 1259, 1266, 1272, 1343, 1345, 1365, 1385, 1389, 1416.
Helly 185, 434, 705, 721, 736, 789.
Henke 112.
Henle 1030, 1212.
Henneguy 244.
Herbst 1330.
Herfort 1417.
Hermann 91, 158, 159, 160, 172, 424, 519, 522, 1060, 1254.
Hertwig O. 68, 667, 1314, 1431, 1433, 1436.
Hertwig R. 667.
Herwerden van 514, 954.
Herxheimer 579, 580, 780, 1308, 1319.
Herzfeld 467.
Herzog 1385.
Heyden v. d. 993.
Hirschler 564.
His 500.
Hitschmann 1241.
Hoeber 90.
Hoehl 778.
Hörmann 1242.
Holmgren 191, 565.
Hornowsky 816.
Hoyer 1082, 1130.
Huber 1213.
Huek 618, 644, 649.
Hueter 798, 1101.

Jackson 779.
Jacobstal 578.
Jaffé 1173.
Jenner 706, 714.
Ikeda 62.
Johnson 1133.
Jolly 68.

§§
Jores 406.
Joris 993.
Joseph 1341.
Jung 248, 252, 263, 507.

Kaiserling 32, 495.
Kallius 972, 1438.
Kankato 597.
Kann 1224.
Kardos 722, 724, 739.
Kasarinoff 589.
Kastschenko 500.
Kato 990.
Katsch 219.
Katz 1394.
Keibel 1442.
Kempf 213.
Kiyono 543, 743.
Klaatsch 870.
Klarfeld 810.
Kleebs 198.
Klein 1143.
Kleinenberg 162.
Koch v. 884, 895.
Koch 1173.
Kockel 748.
Koehler 10, 25.
Köllicker v. 460, 876, 1035.
Koellner 107.
Kolmer 101, 1327, 1389.
Kolossow 671, 672, 1306.
Kolster 542.
Kopsch 538, 562, 564, 969, 1187, 1207, 1420, 1426.
Korff v. 865.
Korschelt 860.
Kossa 652.
Kostanecki 1411.
Krabbe 1271.
Kraus 1262.
Krause C. 666.
Krause R. 427, 438, 1085, 1109.
Krause W. 905, 1314. 1377, 1378.
Kreibich 611, 1048.
Krönig 482.
Kromayer 1308.
Kronecker 52.
Kronthal 972.
Krugenberg 532, 1320.
Kuehne 65, 772, 919, 1033, 1051, 1383.
Kuliabko 50.
Kull 535, 540, 546.
Kultschitzky 592, 999, 1002, 1271.
Kupffer v. 1086, 1193, 1186, 1418.

Lang 173, 183.
Langhans 596.
Langerhans 1273, 1275.
Langley 1124, 1137.
Lautermann 1028.
Launoy 1169.
Lea 65.
Leber 1356.
Lebrun 1431.
Ledermann 1341.
Lee 237.
Leidenfrost 698.
Lenhoff 953.
Lenhossek 841, 967, 988, 1347.
Lepkowsky 876.
Leschke 1223.
Levi 661, 929, 936, 1232, 1277, 1368.
Lewall 1124.
Lewis 50, 82, 464, 520.
Leydig 1276.
Lieberkühn 460, 1133.
Liesegang 316, 656, 989.
Locke 50.
Loele 741, 783.
Loeb 458.
Loewenfeld 1173.
Loewenstein 783.
Loewit 1049, 1050, 1339, 1341, 1359.
Loginow 919.
London 979, 1224.
Lubosch 1420.
Ludwig Ferdinand Prinz von Bayern 1336.
Lundvall 840.

Maas 1146, 1147.
Macallum 648, 650, 653, 654.
Mainani 651.
Mall 770, 1103.
Mallory 366, 749, 799, 781, 783, 785, 839, 931, 1020, 1024, 1062, 1109, 1115, 1145, 1236, 1242, 1260, 1269, 1271, 1298, 1397.
Malpighi 1304, 1365.
Mann 1025.
Marchi 570, 1011.
Marcona 961, 966.
Maresch 801, 802, 1221, 1242, 1397.
Markovitin 1045.
Martinotti 1312.
Matsunaga 611.
Maximow 186, 288, 440, 442, 705, 736, 737, 739, 1113, 1118, 1318, 1464.
May 696, 706, 714, 718.
Mayer Paul 21, 132, 148, 165, 173, 175, 190, 230, 231, 241, 245, 257, 277, 305, 309, 317, 319, 322, 332, 333, 334, 335, 340, 342, 343, 344, 349, 350, 379, 399, 422, 423, 492, 526, 591, 601, 630, 631, 675, 842, 883, 951, 1139, 1140.
Mayer Paula 994.
Mayer 591.
Mays 662.
Meißner 1156, 1335.
Mercier 185.
Merck 279, 286, 773, 806, 808, 810, 973.
Merkel 172, 791, 792, 1166, 1326, 1343.
Merton 1056.
Metzner 399, 400, 555, 1158, 1159, 1160.
Meves 555, 682, 731, 1262, 1414, 1464.
Meyer E. 1101, 1111.
Michaelis 68, 267, 316, 579.
Michailow 1047, 1066.
Minot 247.
Mislawsky 1172.
Moellendorf v. 450, 1222.
Moenkeberg 92.
Moleschott 928.
Mollier 1107, 1109, 1116, 1118.
Morel 439.
Müller A. 933.
Müller E. 1026, 1191, 1126.
Müller H. 55, 91, 101, 130, 135, 184, 415, 591, 658, 736, 854, 860, 862, 934, 975, 997, 999, 1001, 1023, 1343, 1365, 1380, 1391.
Müller H. 909, 1010, 1135.
Münch 932.
Muschenkoff 1005.

Nabias 1059.
Nakano 741.
Netousek 743.
Neubauer 547.
Neuhauß 32.
Neukirch 599.
Neumayer 298, 507, 509.
Nilsson 462.
Nißl 945, 946, 947, 948, 949, 950, 952, 954, 957, 991.
Nocht 442.
Noll 1124.
Novak 1466.
Nuel 1351.

Oberhäuser 504.
Obst 521.
Oeltze 614.
Ogushi 1440.
Olt 285, 291, 295.
Oppel 67, 428, 1100, 1109, 1214, 1435.
Orsós 905.
Orth 88, 152, 265, 339, 415, 434, 440, 442, 705,

§§
721, 731, 736, 744, 781 786, 789, 794, 839, 1113, 1118, 1269, 1284, 1343, 1349, 1394.

Pal 361, 1001, 1002.
Paneth 1143.
Panse 1308.
Pantul 915.
Pappenheim 316, 387, 402, 432, 446, 447, 676, 766, 718, 719, 722, 724, 730, 732, 739, 741, 742, 743, 745, 757, 1162.
Pappenheimer 948.
Pasini 768, 788, 924, 931, 1062, 1115, 1170, 1260, 1273, 1290, 1295, 1297.
Perényi 190.
Perls 647.
Peter 502, 503, 506, 509, 1444.
Peterfi 908, 911, 912, 919, 932.
Petri 34, 513.
Petrunkewitsch 188, 190.
Peyer 1148.
Plate 107.
Podwissotzki 199, 393, 918, 920.
Pötter 1018.
Policard 94, 100, 547, 1212.
Poll 195.
Pollak 1021.
Pommer 837, 860.
Poso 214, 1240.
Pranther 215, 879, 1024.
Pravaz 914.
Prichard 906. 1337.
Purkinje 923, 924, 988, 1063.

Quincke 647.

Rabl C. 166, 170, 171, 340, 1366.
Rabl H. 569.
Ranke 801, 809, 879, 931.
Ranvier 422, 658, 664, 759, 893, 914, 915, 919, 923, 936, 1028, 1030, 1031, 1049, 1052, 1087, 1202, 1216, 1354, 1358, 1371, 1374, 1393, 1401.
Rath vom 167, 168, 169, 1409.
Ratberg 591.
Ratkowski 1341.
Rauber 1457.
Regaud 539, 552, 1256, 1415.
Reichert 257, 926.
Reimann 120.
Reinke 529.
Remak 1032.

§§
Retterer 886.
Retzius 454, 896, 900, 906, 1392.
Ribbert 468, 798, 799, 1195.
Rieckenberg 107.
Riese 972.
Ringer 50, 77, 81, 82.
Ripart 513.
Roehmann 599.
Röse 884.
Röthig 509, 1406.
Rollet 763, 905, 906, 916.
Romanowsky 717.
Romeis 84, 108, 194, 546, 826, 827.
Rosenthal 576.
Rubaschkin 548.
Rudberg 1274.
Rudneff 148.
Rudnev 121.
Ruprecht 894.
Rynbeck 626.

Sabin 783.
Sainmont 528.
Sand 92, 94, 1040.
Sartorius 263, 1457.
Sata 571.
Savini 820.
Schäffer 591.
Schaffer 93, 95, 98, 108, 115, 119, 166, 790, 796, 797, 848, 849, 857, 887, 896, 915, 931, 1137, 1144, 1161, 1260.
Schaudinn 182.
Scheffer 34.
Schenk 517.
Schering 132, 983.
Scheurig 1332.
Schiefferdecker 1305, 1375.
Schlemmer 804.
Schmelzer 644.
Schmidt W. J. 146, 621, 624, 639, 1329.
Schmincke 1111.
Schmorl 608, 661, 662.
Schneider 614.
Schridde 132, 731, 740.
Schuberg 99, 100, 383, 396, 432, 1306.
Schuchard 392.
Schueninoff 749, 798.
Schulemann 450, 451, 465, 1222.
Schultze M. 51, 148, 650, 938.
Schultze O. 92, 149, 154, 215, 371, 372, 688, 887, 918, 987, 992, 1005, 1157, 1434, 1489.
Schultze W. H. 605, 607, 611, 741, 1009.

§§
Schulze F. E. 148.
Schwann 1030, 1212.
Seligmann 1385.
Seibert 29, 34.
Sereni 465.
Sharpey 855, 877, 878, 879.
Siedentopf 34.
Sihler 1061.
Simons 132.
Sitsen 112.
Sjövall 90, 140, 546, 563.
Skrobansky 431.
Smirnow 1047.
Smith 592.
Sobotta 1475.
Solger 901, 1155.
Sokoloff 1124.
Soxhlet 780.
Spalteholz 494, 770, 882, 1094.
Spee v. 220.
Spemann 41.
Spielmeyer 1008, 1015, 1016.
Spuler 175, 176, 185, 340.
Ssobolew 398.
Starke 567.
Stauffacher 116.
Steckelmacher 467.
Steinach 108.
Stern 1375.
Stieve 518.
Stintzing 1128
Stöhr 1058, 1317, 1323.
Stöltzner 90.
Stork 1422.
Strasburger 361.
Strasser 1443.
Strauß 446.
Streeter 1003.
Streiff 497.
Studnicka 866.
Stumpf 1267.
Stuurmann 934, 956.
Szent-Györgyi 112, 1346, 1347.
Szigmondy 25.
Szüts v. 367, 1022.

Taenzer 818.
Tandler 1008.
Tappeiner v. 122.
Tellyesniczky 133, 1168.
Thielemann 532, 1320.
Thies 1101.
Thoma 108, 248.
Tillmanns 831.
Timofejew 1192.
Tobler 90.
Tonkoff 430.
Tschashin 1196.
Traina 931, 1296.
Türk 756.

§§
Uhlenhut 86.
Unna 120, 319, 359, 376, 384, 434, 526, 612, 613, 614, 615, 628, 630, 732, 744, 745, 786, 787, 788, 818, 1296, 1300, 1310, 1326, 1333.

Van Benden 1406.
Van Gehuchten 118.
Van Gieson 415, 417, 418, 795, 816, 1022.
Van Herwerden 514, 954.
Van Rynbeck 626.
Van Walsem 219.
Vastarini-Cresi 602, 1004.
Vater-Pacini 1334, 1338.
Veratti 559.
Verocay 147, 800.
Virchow H. 137, 1426.
Vonwiller 466.

Waldeyer 1301.
Wallart 1112.
Walsem van 219.
Walter 1290.
Weidenreich 699, 701, 703.
Weigert 404, 418, 428, 746, 748, 814, 817, 974, 994, 995, 996, 997, 998, 999, 1000, 1001, 1002, 1003, 1004, 1012, 1016, 1017, 1018, 1025, 1174, 1190, 1210, 1271.
Weil 884.
Weill 1149.
Weinschenk 25, 29.
Weismann 920.
Wentscher 68.
Werneck 1326.
Werzberg 702, 703, 732, 1251.
Wicklein 646.
Wiener 649.
Wiesel 1283.
Wiesner v. 101.
Winiwarter 392, 393, 528.
Winkler 604.
Wittmaack 1391.
Wolff 1197.
Wolfrum 237.
Wolters 1000, 1002, 1271.
Wooley 783.
Woronin 673, 1105, 1108, 1306.
Wychgram 32.

Zaccarini 835.
Zachariadés 770.
Zacharias 649.
Zeller 112.
Zeiß 2, 14, 16, 18, 23, 25, 26, 27, 32, 34, 85.
Zenker 88, 184, 185, 415, 736, 737, 781, 782, 786, 794, 839, 905, 1124, 1168, 1217, 1259, 1266, 1269, 1272, 1427, 1438, 1465.
Ziegler 851.
Zieglwallner 604.
Ziehl 732.
Zilliacus 675.
Zimmermann A. 34.
Zimmermann K. W. 894, 1126.
Zinn 1365.
Ziveri 593.
Zürn 1371.

Sachregister.

A.

§§

Abbescher Beleuchtungsapparat . . . 13
Abnutzungspigmente 616, 619
Absoluter Alkohol (entwässern) . . . . 202ff.
– –, Prüfung 205
Abstrichpräparate v. Organen, Herstellung 705
Aceton 112
–, Ausschütteln mit Kal. acet. 740
–, Differenzieren mit – 445, 1287.
–, Entwässern mit – .1345
–, Färben von Nebenniere 1287
–, Fixieren von Blutpräparaten 697
–, Fixieren von Gewebe 112, 1345
–, Neutralisieren . . 740
–, Reinigung 740
Aceton-Eisessig-Formol-Sublimat . . .1345
Aceton-Kalium aceticum-Gemisch (Differenzieren von Giemsafärbung) . . 740
Aceton-Methylenblau-Erythrosin (Nißl-Körper) 952
Aceton-Paraffin . . . 112
Aceton-Salpetersäure (Neurofibrillenfixierung) 1040
Aceton-Scharlach R. 580
Aceton-Xylol 738
Aceton-Xylol nach Giemsa 445
Achromate 11, 14
Achromatische Spindel (Darstellung) . . 527ff.
Achsenfaden (Spermium) 1248
Achsenzylinder . . .1005
–, s. auch Neurofibrillen

§§

Achucarros Tannin-Silbermethode . . 808
Acidophile Granulationen, (Blutzellen) 714ff., (Hypophyse) 1165f., (Nebenniere)1290
Acidophilie 386
Acridinrot 794
Acridinrot-Pikrinsäure-Wasserblau (Traina) 794
Adenoides Gewebe .1099
Adjektive Färbung . 321
Äquivalentbild von Nißl 945
Äther zum Entfetten 780
–, Entwässern dess. . 233
–, Prüfung auf Wasser und Alkoholgehalt 233
Äther-Alkohol (Blutfixierung) . . . 697
– für Celloidineinbettung 233
Ätherische Öle . . . 199
Agarlösung für Blutpräparate 687
Agduhrs Modifikation der Bielschowsky-Methode 807
Alaun (als Differenzierungsmittel) . . . 347
– (nach Entkalken) . 846 857
Alaunkarmin 336
Alfieris Bleichmethode 633
Alizarin . . . . . 460ff.
Alkannatinktur . . .1302
Alkohol absol.
– –, Entwässern mit 113
– –, – des – . . . 202ff.
– –, Fixierung . . . 205
– –, Prüfung 202
– –, Reinigung von gebrauchtem – . . 107
– –, Verdünnungsbestimmung 107
Alkoholäther 233
Alkohol-Äther-Celloidin zur Fixierung . 121

§§

Alkohol-Celloidin, Aufblocken 244
– –, Aufkleben der Schnitte 288
– –, Einbetten . . . 235
– –, Schneiden . . . 260
– –, Weiterbehandlung der Schnitte . 306
Alkohol ⅓ (Ranvier) 658
Alkohol-Eisessig . . 117
Alkohol-Eisessig-Chloroform 118
Alkohol-Fixierung . . 113
Alkohol-Formol 119, 1161
Alkoholische Boraxkarminlösung . . 337
Alkoholometer . . . 107
Alkohol-Osmiumsäure 603
Alkohol-Salpetersäure (Entkalken) . . . 858
Alkohol-Salzsäure (Differenzieren). . . . 346
Alkohol-Seifenmethylenblaufärbung . . 946
Alkohol-Sublimat . . 182
Alkoholtabelle . . . 107
Alkohol-Toluidinblaufärbung 840
Alkoholverdünnung . 107
Allophoren . . 624, 635ff.
Altmannsche Fixierung 537
– Färbung 554
– **Modifikation** von Kiyono 543
– – – Kull 556
– – – Metzner . . .1159
– – – Schridde . . . 713
– Injektionsmethode 1091f.
– Paraffingemisch . 219
– Trockenmethode . 169
Alveolenepithel der Lunge . . . . 1206ff.
Alzheimers Färbung amöboider Gliazellen 1025
– Säurefuchsin-Lichtgrünmethode . . . 957

§§

Ameisensaures Blei (Ganglienzellen) . 973
Ameisensäure (Goldimprägnation) . . 980
Ameisensäure-Chromogengemisch (Weigert). 1012
Ameisensäure-Kaliumbichromat (Ciaccio) 588
Ammoniakalische Silberlösung von Agdduhr. 807
– – – Bielschowsky . 803
– – – Schlemmer . . 804
– – – Schultze O. – Gros. 987
Ammoniakkarmin (für Ganglienzellfortsätze) 975
– nach Best 598
Ammoniumbichromat (Beize, Glia) . . . 1021
– (Isolierungsmittel) . 660
Ammoniumbichromat-Fluorchrom (Vastarini Cresi) 1004
Ammoniumkarbonatalkohol 1320 b
Ammoniummolybdat 382 ff., 1045 ff.
Ammoniummolybdat-Chromsäure . . . 1047
Ammoniumpikrat . . 382, 1044
Ammoniumsulfat . . 514
Amniosflüssigkeit . . 47
Amphibieneier 1227, 1430 f.
Amphochrom . . . 386
Amphophilie 386
Amylalkohol 1337
Amylnitrit 1079
Analysator 19
Anilinblau 781
Anilinblau-Orange-Säurefuchsin (Mallory). 781
–, **Modifikation** Mc. Gill 782, 812
–, – M. Heidenhain 785
–, – Herxheimer . . 784
Anilinblau für Knochenschliffe. . . . 893
Anilinfarbstoffe, allgemeines . . . 373 ff.
–, Einfluß der Fixierung 380
–, Fixierung der Färbung . . . . . 382 ff.
–, –Haltbarkeit . . 377
–, Reinheit . . 317, 389
– Einteilung 386
Anilinöl 199, 397
Anilinöl-Xylol nach –, Weigert (2 : 1) . . 746
–, Benecke (2 : 3) . 747

§§

Anilinwasser (Herstellung) 376, 397
Anilinwasser-Gentianaviolett (Gram) 407, 1254
Anilinwasser-Kristallviolett (Plastosomen) 550
Anilinwasser-Methylviolett (Kromayer) 1308
Anilinwasser-Säurefuchsin (Altmann) . . 554
Anisotropie 19
Anitschkows Aufklebemethode . . . 289, 294
Anschaffung eines Mikroskopes 34
Aufblocken von Celloidinblöcken . . 244, 245
– – Celloidinschnitte 293
Aufklebemethode, Paraffinschnitte . . . 282
Apathys Celloidineinbettung 235
– Celloidinparaffineinbettung 238
– Gelatineeinbettung 240
– Goldmethode . . . 979
– Gummisyrup . . . 477
– Hämatein Ia . . 350
– Nelkenölcelloidin . 245
– Ölgemisch 236
– Ölcelloidin 236
– Ölgelatine 240
– paraffineinbettung 201, 214, 217, 219, 229
– Rubin S-Ammoniumpikrat 481
– Umrandungsmasse 481
Apochromat . . . 11, 14
Apparato reticolare interno . . . . 557 ff.
– – – in Nervenzellen . . . . . 959 f.
Aqua dest., Prüfung desselben bei Blutfärbung 710
– Javelli für Korrosion 1093
– – – Entfernen von Chitin 1333
– – – – der Eihüllen 1439
Areoläres Gewebe . . 764
Argentamin 990
Argentum colloidale 1196
Argent. nitricum ammoniakalisch . . 803 ff.
– zum Calciumnachweis 652
– – Kalknachweis. . 859
– zur Imprägnation s. Silbermethoden
Arkansasölstein . . . 56
Arnolds Methode der Blutzellenuntersuchung . . . 683, 686

§§

Arsenige Säure-Formol 560
Artoms Fixierungsmethode 1412
Ascaris megalocephala 1404 ff.
Asepsis bei Gewebekulturen . . . . . 70 f.
Asphaltlack 483
Aßmanns Blutfärbung 716
Asterias Eier 1226
Atmungsorgane . . .1198
Atraktosomen . . .1260
Atropin 1153
Auerbachscher Plexus 1150
Aufblocken . . .242—246
Aufhellung von Schnitten . . . 470 ff.
– – Embryonen 494, 1470
– – Knorpelknochenpräparaten 840
– nach Lundvall . . 840
– – Spalteholtz . . . 494
– – O. Schultze. . .1093
Aufklebeverfahren. Allgemeines . . . 266
Aufklebeverfahren für Celloidinschnitte
– – – nach Anitschkow 289
– – – – Apathy . . 293
– – – – Carazzi . . 290
– – – – Dantschakoff 288
– – – – Maximow (Rubaschkin) . . . 288
– – – – Olt 291
– – – – Weigert . . 292
– **f. Gefrierschnitte**
– – – nach Anitschkow 294
– – – – Olt 295
– **für Ölcelloidinschnitte**
– – – nach Apathy . 293
– – **für Paraffinschnitte**
– – – – mit Celloidin . 284
– – – – Eiweiß nach P. Mayer . . 277, 280
– – – – Eiweißwasser 282
– – – – Gelatine 285, 286
– – – – Collodium-Ricinusöl. 1443
– – – Serumalbumin 279
– – – – nach Straßer 1443
– – – – mit Wasser 272 ff.
Aufkleben brüchiger Objekte (Dotter) .1443
Aufspannen der Nerven 1030
Aufspannen von Darmstücken, Membranen usw. 1120, 664

§§
Aufsuchen jüngster Entwicklungsstadien . . . . . 1482ff.
Aufzucht von Reptilieneiern 1447
Auge 1342
Aurantia (Vitalfärbung) 466
Aurantia-Eosin-Indulin (Blut) . . . 725
Aurantia-Säurefuchsin-Toluidinblau (Plastosomen) . . 555
Ausblassen der Präparate 378
Auspinseln von Schnitten 1099
Ausschütteln von Schnitten 1100
Ausstrichpräparate, Anfertigung von Blutausstr.-Fixierung . . . . . 692ff.
–, Fixierung . . . 696ff.
– von Organen . . . 705
– von Spermien . . 1250
Auswaschen . . 106, 108
Autogenes Blutplasma 79
Azeton, s. Aceton
Azokarmin (Mallory-Heidenhain) . . . 785
Azur II Eosin (Schnittfärbung) . . . . 442f.
– – –, Blutfärbung 717ff.
Azur-Granula . . . 723
Azur-Tanninmethode nach Herxheimer . 1319

B.

Bänderschneiden . . 255
Balsamflasche . . . 488
Bang & Sjövalls Plastosomenfixierung . 546
Bariumbichromat . . 129
Bartels Neurogliafärbung 1017
– Lymphgefäßinjektion 1094
Barytwasser (Einwirkung auf Bindegewebe) 763, 793
– (zur Demaskierung von Knorpeln) . . 830
Basisches Eiweiß (Färbung) 1320
Basische Teerfarben. 386
Basochrom 386
Basophilie 387
Bauchspeicheldrüse . 1167
Becherzellen 1136
Befruchtung 1404
–, künstliche (Fische) 1423
–, – (Amphibien) . . 1432
–, Säugetiere . . 1475ff.
–, Vögel 1457

§§
Belegzellen . . 1124f.
Beleuchtung zum Mikroskopieren . . . 23
Beleuchtungsapparat 13
Beize (Färbung) . . 322
Bendas Mitochondrienfixierung . . . 525
– Mitochondrienfärbung 550
– Neurogliadarstellung 1019
– Orceinlösung . . . 820
– Safranin-Lichtgrünfärbung 523
– Nachweis von Fettnekrosen 1174
– van Giesonfärbung 417
Bensleys Plastosomenfärbung 554
– Plastosomenfixierung 544
Benutzung des Mikroskopes 33
Benzin 199
Benzoazurin 386
Benzol zum Durchtränken . . . 206, 208
Benzoreinblau . 1320d
Benzylalkohol . 199, 491
Benzylbenzoat . . . 494
Beobachtungsflüssigkeiten, indifferente 47ff.
Bergamottöl . . 199, 206
Berlinerblau zur Injektion v. Blutgefäßen 1086
– – – Gallenkapillaren 1181
– – – Lymphgefäßen 1094
–, Reaktion auf Eisen 646
–, – – eisenhaltigen Pigmenten 618
Beschriften der Objektträger . . 268—270
Bests Glykogenfärbung 598
– – für Knochengewebe 861
Bethes Darstellung der Neurofibrillen im Zentralnervensystem 977
– – – – peripheren Nerven 1036
– – – Nervenendigungen 1046
Bewegung, aktive, der Epithelien 655
– der Leukocyten . 87, 685ff.
Bielschowskys Methode für **Bindegewebe** (B.-Maresch) 802
– Modifikation mit Pyridin 806

§§
Bielschowskys Methode nach Agduhr 807
– – für **Nervenendigungen** . 1037 ff., 1042
– – – **Neurofibrillen im Zentralnervensystem** 983
– –, Modifikation mit Pyridin 984
– – –, nach Agduhr . 986
– –, – – Gros-Schultze 987
– – für **Neurofibrillen der peripheren Nerven** 1037
– – – – – –, Modifikation von Boecke 1039
Bindegewebe . . . 758ff.
–, elastisches – . . 768ff., 814ff.
–, kollagenes – . . 758ff., 781ff.
–, **Färbemethoden**
–, – Acridinrot-Pikrinsäure-Wasserblau (Traina) 794
–, – Anilinblau-Orange-Säurefuchsin (Mallory) . . . . . 781ff.
–, – Azokarmin-Anilinblau-Orange (Heidenhain) 785
–, – nach Bielschowsky s. d. 802
–, – Chromsäure-Hämatoxylin (Verocay) 800
–, – Chromotrop 2 R 793
–, – nach Delamare . 420
–, – Goldchlorid-, Jodjodkalium (Krause) 811
–, – nach Hornowsky 816
–, – Naphtholschwarz 792
–, – Orcein (Taenzer-Unna) 818
–, – nach Pasini . . 786
–, – Pikroblauschwarz 789
–, – Pikronigrosin . 790
–, – Phosphorwolframsäurehämatoxylin (Hueter) 798
–, – Resorcin-Fuchsin (Weigert) 814
–, – Resorcin-Fuchsin-Pikrinsäure-Säurefuchsin (Hornowski) 816
–, – Resorcin-Fuchsin-Scharlach R . . . 817
–, – Säurefuchsin-Pikrinsäure (van Gieson) 415
–, – –, Modifikation von Apathy . . . 419
–, – – – Benda . . 417
–, – – – Hansen . . 796

§§

Bindegewebe-Färbemethoden Säurefuchsin-Pikrinsäure von Schaffer . . . 797
–, – – – Weigert . 363
–, – Säuregrenat-Pikrinsäure. 791
–, – Silbermethode Bielschowsky-Maresch . . . . . 802ff.
–, – Tanninsilbermethode (Achucarro) 808
–, – – (Klarfeld) . . 810
–, – – (Ranke) . . . 809
–, – Wasserblau-Orcein-Eosin-Säurefuchsin (Pasini) 786
–, – Verdauungsmethoden . . . . . 771ff.
–, – Verhalten gegen Reagenzien . . 763, 770
Bindegewebsknorpel . 839
Binnenapparat . . . 557ff.
–, Darstellung nach Björkenheim . . . 559
–, – – Cajal (Uranni-trat) 557
–, – – Golgi 560
–, – – Hirschler. . . 564
–, – – Kopsch . . . 562
–, – – Sjövall . . . 563
–, – der Ganglienzelle 959ff.
Biondi-Ehrlichs Methylgrün-Orange-Säurefuchsin . . 436ff.
Binokulare Lupe . . 2
– Fernrohrlupe . . . 3
–s Mikroskop 21
Bismarckbraun . . . 404
Blauglasscheibe . . . 23
Blauschwarz 789
Bleichmittel . . . 630ff.
– Chloralkohol (P. Mayer). 631
– Kaliumhypermanganat (Alfieri) . . 633
– Natriumperborat (Carazzi) 634
– Pal 548
– Wasserstoffsuperoxyd 630
Bleichen osmierter Präparate . . 361, 548
Blende 6, 7
Bleu de Lyon . . . 429
– – Lyon-Mucikarmin 827
– – Lyon-Pikrinsäure 431
Blut . . . . . .676—757
–, **Ausstrichpräparat** 692ff.
–, **Färbung** . . . . 706ff.
–, Allgemeines . . 707ff.
– nach Aßmann . . 716
– – – mit Dahlia . 726
– – – nach Giemsa 717ff.

§§

Blut, Färbung nach Jenner 714
– – – Karbolfuchsin 732
– – – Kardos-Pappenheim 722
– – – May-Giemsa . 720
– – – May-Grünwald 714
– – – Methylenblau . 728
– – – Panchrom . . 721
– – – Triacid (Ehrlich) 729
– – – – (Pappenheim) 730
– – – Triglyzerin-gemisch 725
– – **Fixierung**
– – des feuchten Ausstriches . . . . 699ff.
– – – lufttrockenen Ausstriches. . . 696ff.
– **frisches Präparat**
– – rote Blutkörperchen . . . . . 679ff.
– – Verhalten gegen Reagenzien . . . 680ff.
– – Untersuchung nach Arnold 683
– – Beobachtungsflüssigkeiten . . . 684
– – weiße Blutzellen 685
– – Blutplättchen. 689ff.
– **Schnittpräparat**
– – **Färbung** 739
– – – Azur Eosin. . 442
– – – Dominici . . . 440
– – – »Dopa«-Reaktion 609, 742
– – – Giemsa n. Schridde 740
– – – May-Giemsa (panoptisch) . . . 446
– – – Methylgrün-Pyronin . 434, 745, 1149
– – – Methylgrün-Pyronin-Orange . . . 722
– – – Oxydase-Reaktion . . 605, 608, 741
– – – Panchrom . . 447
– – – Polychromes Methylenblau . . 744
Blutbildungsherde der Leber 1176
Blutfarbstoffe . . . 781
Blutfibrin, Färbung nach Kockel . . . 748
–, – – Schueninoff . 749
–, – – Weigert . . . 746
Blutgefäße . .1067—1072
–, Elastinfärbung . 814, 1067
–, Endothelien 664, 1071,
–, Injektion . . 1073ff.
–, Lebendbeobachtung am Menschen. . . 66
–, – an Tieren . . . 753

§§

Blut, Mazeration . .1069
Blutkörperchen
–, Verhalten gegen Reagenzien . . . . 680ff.
–, Zählung . . . . 756ff.
Blutkreislauf . . . 753ff.
Blutkristalle . . . 751f.
Blutlaugensalz zum Eisennachweis . . 644
Blutlaugensalz-Boraxlösung nach Weigert 994
Blutlaugensalz-Lithioncarbonat nach Kultschitzky 999
Blutpigment 616, 619, 751f.
Blutplättchen. . . . 689
Blutplasma, Gewinnung 72
–, autogen, heterogen 79
Blutserum . . . 47, 684
Böhmersches Hämatoxylin 354
Borax ferricyankaliumlösung (Markscheidenfärbung) . . . 994
Boraxkarmin (alkoh.) 337
– (wässerig) 334
Boraxkarmin-Bleu de Lyon-Pikrinsäure . 431
Boraxkarmin-Gelatine 1085
Boraxkarmin-Indigokarmin-Säurefuchsin 428
Boraxkarmin-Indulin 1146
Boraxkarmin-Lichtgrün 521
Boraxkarmin-Pikrinsäure 421
Bordeaux S 360
Borns Plattenmodelliermethode . . . 501
– Wärmetischchen . 275
Bouins Gemisch . . 163
Bowmannsche Scheiben 935
Brechweinstein (Fixierung von Anilinfärbung) 383
Brillant-Kresylblau . 459, 466
Brillantschwarz-Toluidinblau-Safranin . 941
Brunnersche Drüsen 1144
Brunsterscheinungen 1475ff.
Brunstzeit . . . 1475ff.
Brütezeiten. 1460
Brutapparat 1057
Buzzis Eleidindarstellung 1303

C.

Cadmiumchlorid für Lipoidfixierung . .1010

§§
Cadmiumchlorid Markscheidendarst. n. H. Müller 1010
– für Muskelfixierung 933
Cajals Methode für den Golgischen Binnenapparat (Silbermethode) 960
– – (Urannitratmethode) 557
– Methode für Neurofibrillen 988
– – – Retina 1381
– Modifikation der Golgischen Silbermethode 967
Cajeputoel 946
Calcium, Nachweis 651 ff.
–, – nach Grandis u. Mainani 651
–. – – Kossa . . . 652
–, – – Macallum . . 653
Calciumbichromat (Fixierung) 129
Calciumchlorid (zum Entwässern) . . . 203
– (als Zusatzflüssigkeit) 49
Calciumoxyd (zum Entwässern) 202
Calcium salicylicum-Formol (Fettseifen-Nachweis) 584
Carazzis Bleichmethode 634
Carnoysche Flüssigkeit 118
Cedernholzöl (Immersionsöl) 14
Cedernholzöl-Celloidin (Lee-Wolfrum) . . 237
Cedernholzöl-Damarharz 490
Cedernholzöl, Durchtränkung n. O. Schultze 215
– als Einschlußmittel 491
– (Zwischenflüssigkeit) 214
– nach Pranther . . 215
– – Poso. 214
Celloidin . 197 f., 232 ff.
–, **Aufblocken** von Celloidinmaterial. . 244 ff.
–, **Aufkleben** von Celloidinschnitten . 288 ff.
–, – – Celloidinparaffinschnitten . . . 283
–, **Bereitung** der Lösung 232
–, **Einbettung** in Alkoholcelloidin . . . 239 f
–, – – Celloidinparaffin 238
–, – – Ölcelloidin . . 236
–, **Entkalken** nach Celloidineinbettung . 848

§§
Celloidin, **Schneiden** von Alkoholcelloidin 260
–, – – Ölcelloidin . . 261
–, **Weiterbehandlung** –, von Alkoholcelloidinschnitten 306
– – Celloidinparaffinschnitten . . . 311
–, – – Ölcelloidinschnitten 308
Celloidintrockenmethode . . . 236, 237
Centralnervensystem s. Nervensystem
Centrifuge 663
Centrosom . . . . 527 f.
Centrophormien . . 959
Cesaris-Demels Frischfärbung 459
Champys Fixierungsgemisch für Plastosomen 540
Chitin 1333
Chlor, nascierendes z. Bleichen 631
Chlor, Nachweis . . 654
Chloralkohol 631
Chloralhydrat (Darst. von Nervenendig.) 1061
– (z. Fixierung) . . .1378
– (Zusatz z. Injektionsmasse) . . .1084
Chloralhydrat-Formalin (Konservierung nach Jores) . . . 496
Chloraluminium 1139, 1140
Chloroform 199, 206, 211
–, Reinigung 213
–, Verwendung z. Härtung v. Celloidin . 237
Chloroform-Alkohol-Eisessiggemisch n Carnoy 118
Chlorwasser (Bleichen) 631
Chlorzink (Fixierung) 120
Cholesterin . . . . 586 ff.
Chondroitinschwefelsäure 829
Chondromucoid . . . 829
Chondriokonten s. Plastosomen . . 533 ff.
Chondriosomen s. Plastosomen . . 533 ff.
Chorioidea 1362
Chromaffines Gewebe 1283 ff.
Chromalaun (Fixierungszusatz) . 542, 543
Chromalaundioxyhämatein n. Hansen 365
Chromalaun-Essigsäure-Kupferbeize n. Weigert 994
Chromatin, exakte Färbung . . . 347, 524

Chromatin, Untersuchungsmethoden 511 ff.
Chrom-Essigsäuregemisch (Fixierung) 124
– – (Entferng. des Dotters) 1426
– – (Entfernung der Eihüllen) 1437
Chromoform 132
Chromogen-Ameisensäure-Natriumsulfit n. Weigert 1012
Chromophilie d. Kernes 516
Chromophoren . . . 624
Chrom-Osmium-Essigsäuregemisch nach Flemming stark 125 ff.
– schwaches Gemisch 126
– nach Fol 127
Chromotrop 2 R . . 793
Chromotrop-Methylenblau 826
Chromreaktion (Nebenniere) . . 1283 ff.
Chromsäure (Entkalkung) 854
–, Eisessig 124
–, Fixierung 122 f., 1426, 1437
–, Ganglienzellisolierung 939
– als Isolierungsmittel 660
–, Hämatoxylinfärbung (Verocay) . . 800
Chromsäure-Osmiumsäure-Eisessig . 125 ff.
Chromsäure-Sublimat-Eisessig . . 1466, 1456
Chromsaurer Ammoniak (neutral) . .1216
Chromschwefelsäure (zum Reinigen von Glas) 37
Chrzonszczewskys Methoden 1183
Ciaccios Lipoiddarstellung 588
– Differenzierung zw. Lipoiden u. Neutralfetten 590
Cinchonin 785
Cochenille-Tinktur . 340
Cochenille-Eisenalaun 1444
Cochlea . . . . 1386 ff.
Cohnheimsche Felder 906
Cornea 1348
Corium 1315
Corneafibrillen . . 1353 f.
Cortisches Organ 1387 ff., 1392 ff.
Cox Ganglienzelldarst. 970
Cresylechtviolett . .1300
Cuprum aceticum bei Cowdry-Bensleys Plastosomenfärbg. 553

§§

Cuprum aceticum bei Weigerts Markscheidenfärbung. . 994
– – – – – neutral. . 998
– bichromic. (Fixierung) 129
– sulfuricum (z. Entwässern v. Alkohol) 204
Curare 43, 753
Cutisbindegewebe 1315 ff.
Cytose 924

D.

Dahlia (zur Färbung der Mastzellen granula) 726
– (für Zellverbindungen) 1306
Damarharz (Einschlußmedium) 490
Damar-Xylol 1065
Dampfgemisch nach Werzberg (zur Fixation) 702
Darm, Untersuchung 1114 ff.
Dauer der Fixierung 96
Deckgläschen . . .36 ff.
–, Ersatz durch Gelatine 484
–, – – Glimmer . . 36
–, Reinigung 37
Deckglaskultur 70, 77 ff.
Deckglaspräparate bei Blutuntersuchung . 692
–, Umranden . . . 479 ff.
Definierflächen . . . 501
Degeneration v. Deckglaskultur 80
Degenerierende Nervenfaser, Darstell.-1011
Delafields Hämatoxylin 351
Delamaresche Färbung 420
Delamination . . .1472
Dentinfibrillen . . 874 f.
Dentinröhrchen 876, 895,
Descemetsches Endothel 1350
Dichromsaures Kalium s. Kalium bichromicum
Dichromsaures Silber 1186
Dietrich-Smiths Lipoidfärbung . . . 592
Differenzierung (beim Färben) 320
– bei Hämatoxylinfärbung mit Salzsäure 346
– – – – Alaunlösung 347
– – – – Boraxferricyanid 994
– – Karminfärbung mit Salzsäurealkohol 335, 337

§§

Diffusionsvermögen d. Fixierungsflüssigkeit 95
Dimethylparaphenylendiamin . . . 605 ff.
Dioxyphenylalanin 609 ff.
Direkte Färbung . . 321
Dogiels vitale Methylenblaufärbung . .1043
Dominicifärbung . . 440
Dominici Modifik. von Tischkutin 441
Donaggios Neurofibrillenfärbung . . 978
Dopa Reaktion . . . 609
Doppelbrechende Lipoide (Nebenniere) 1289
Doppelbrechung . . 20
Doppelchromsaures Kalium s. Kaliumbichromat.
Doppelfärbung (allgemeines) . . . . 408 ff.
Doppelmesser . . . 57
Dotterentfernung . .1426
Dotterfärbung . . .1444
Dotterhaut . 1463, 1465
Dotterkern 1236
Drittelalkohol (Ranvier): 658 (Epith.), 925 (gl. Musk.), 937 (Ganglz.), 1069 (Gefäße), 1369 (Linse), 1399 (Nasenschleimhaut)
Drüsen (Untersuchg.) 1123 ff., 1151 ff.
Dubreuils Plastosomenfixierung . . . 541
Dürcksche Fasern 995, 1072, 1101
Dunkelfeldbeleuchtung 17, 18
– für Blutzellenuntersuchung 688
– – Pigmentzellenuntersuchung . . 625
Durchfärbung mit Hämatoxylinlösg. . 344
– – Karminlösungen 334, 337
Durchsichtigmachen s. Aufhellung.
Durchtränkung, Allgemeines . . . 197 ff.
– mit Celloidin . . . 234
– – Celloidinparaffin 238
– – Gelatine . . . 240 f.
– – Kollodiumparaff. 918
– – Paraffin 224
– – Vormedien . . 206 ff.

E.

Eau de Javelle zur Entferng. v. Chitin 1333

§§

Eau de Javelle zur Entferng. von Eihüllen 1439
– zur Korrosion . .1093
Ebners Entkalkungsflüssigkeit 855
Echinuseier. 1226
Echtgelb 1320
Edingers Gelatineeinschlußmethode . . 484
Ehrlich-Biondilösung 436
Ehrlichs Dahlialösung 726
– Einteilung der Anilinfarbstoffe . . . 386
– Fixierung von Blutausstrichen . . . 698
Ehrlichsche Granula 725
Ehrlichsches Hämatoxylin 353
– Triacidgemisch . 436 ff.
– Triglyceringemisch 725
– vitale Methylenblaufärbung . . .1043
Eier, Untersuchung im frischen Präparat 1226 ff.
–, – im fixierten Präparat . . . . 1231 ff.
–, Isolierung von Eizellen 1228
– von Amphibien 1430 ff.
– – Fischen . . 1421 ff.
– – Neunaugen 1417 ff.
– – Reptilien . 1446 ff.
– – Säugetieren 1474 ff.
– – Vögeln . . 1457 ff.
– – Wirbellosen . .1403
Eierstock . . . 1226 ff.
Eihüllenentfernung (Amphibien) . 1434 ff.
Eileiter 1237, 1475, 1484
Einbetten . . 197—242
– in Celloidin . . 232 ff.
– – Celloidin-Paraffin 238
– – Gelatine nach Apathy 239
– – – nach Gaskell . 241
– – Kollodiumparaffin (O. Schultze) . 918
– – Ölcelloidin (Apathy) 236
– – – (Lee-Wolfrum) 237
– osmierter Präparate 155, 568
– in Paraffin . . 200 ff.
– nach Prantner . . 215
– nach P. Mayer . . 231
– nach O. Schultze 215, 918
Einbetträhmchen . . 226
Einschluß von Präparaten . . .381, 470 ff.
– – Knochenschliffen 891
Einschlußmittel: Benzylalkohol 199, 491, 470
– Cedernöl 491

§§

Einschlußmittel: Damarharz 490
- Euparal 492
- Gelatine 484
- Glyzerin 471
- Glyzeringelatine (Glyzerinleim) . . 474
- Gummisirup . . . 477
- Kanadabalsam . 485 ff.
- Laevulose 475
- Paraffinum liquid. 493
- Terpineol 491

Einspannen des Objektes ins Mikrotom 258
Einstellen mit Mikroskop . . . . . 33 ff.
Einstichinjektion . . 1094
Eisenalaun 358, 359, 1256
Eisenalauncochenille 1444
Eisenalaunhämatoxylin n. Heidenhain . 358
Eisenchlorid (Elastinfärbung) 814
- (Hämatoxylin) . . 362
Eisenhämatoxylin n. Weigert für Kerne 362
- - - - Markscheiden . 994
- Thiazinrot 912
Eisen-Ammonialaun . 359
Eisennachweis, Berlinerblau-Reaktion 646
- nach Macallum . . 648
- maskierter Eisenverbindungen . . . 648
- nach Perls, Hull, Quincke 647
- nach Tirmann und Schmelzer 644
- Turnbullblau-Reaktion 644
Eisen und Fettdarstellung 1122
Eisenoxydammonium (zur Beize) = Eisenalaun 359
Eisenoxydsulfat . . 1356
Eisentinte f. Glykogenfärbung 601
Eisessig 138
Eisessig-Alkohol-Chloroform . . . 118
Eisessig-Kupferazetat-Kupferchlorid . . 513
Eisessig-Sublimat . . 183
Eiweiß als Aufklebemittel für Schnitte 277 ff
- (bei Fixierung) . . 91
- zur Injektion . . . 1089
-, Tusche (Glastinte) 269
- als Zusatzflüssigkeit 47
Eiweißglyzerin 269, 278
Eiweißkristalle (Hoden) 1280
Eiweißlösende Reagenzien 1320a

§§

Elastisches Gewebe 768 ff., 814 ff.
- -, Färbung nach Benda 820
- - nach Fischer (Fett- u. —) . . . 817
- - nach Hornowsky 816
- - mit Kresofuchsin = Resorcinfuchsin 814
- - - Orcein 818
- - nach Pranther . 819
- - mit Resorcinfuchsin 814
- - nach Taenzer-Unna 818
- - mit Wasserblau-Orcein 674, 787
- - nach Weigert . 814
- - frisches Präparat 768
- -, Verhalten gegen Reagenzien . . 769 ff.
- -, - - Verdauung 771 ff.
- - in Blutgefäßen 1066, 1068

Elastische Fasern der Cutis 1317
- - der Lunge . . . 1209
Elastischer Knorpel 824, 833
Elastische Membran (isolieren) 1068
- Netze 768
Eleidin 1302
Embryologische Technik . . . . . 1403 ff.
Embryonales Bindegewebe 765
- Skelett (Totalpräparate) 840
Embryonenextrakt . 79
Endokard 1065
Endothel der Blutgefäße . . . 664, 1071
- - Lymphdrüsen . 1098
Entfettung von Deckgläsern u. Objektträgern . 37, 39, 777
- - Organen 780
Enthaaren 44
Entjoden 176
Entkalkung . . 843 ff.
-, allgemeines . . . 843
- nach Alexander . 858
- mit Chromsäure . 854
- - Chrom-Salpeter oder Salzsäure . . 1394
- - Ebnerscher Entkalkungsflüssigkeit 855
- - Flemmingscher Lösung 854
- - Müllerscher Lösung 854
- - Pikrinsäure. . . 852
- - Pikrinsalpetersäure 852

§§

Entkalkung mit Salpetersäure 857
- - Salpetersäure-Alkohol 858
- - Salpetersäure-Formol . . . 857, 1394
- - Salpetersäure-Phloroglucin . . . 858
- - Salzsäure . . . 856
- - Salzsäure-Chromsäure 856
- - Salzsäure-Kochsalz 855
- - schweflige Säure 850
- - Trichloressigsäure 853
- nach Ziegler . . 850 f.
Entkalken der Zirbeldrüse 1270
Entparaffinierung . . 296
Entschlacken (Nervengewebe) 992
Entspriten . . . . 206 ff.
Entwässern des Äthers 233
- - Alkohols . 107, 202 ff.
- mit Aceton (nach Färbung). 740
- (nach Fixierung) . 1345
- nach der Fixierung 200
- - - Färbung . . . 301
Enzym 514
Eosin . . . . . 410 ff.
Eosin-Aurantia-Indulin 725
Eosin-Hämalaun . . 410
Eosin-Methylblau n. Mann 1025
Eosinsaures Methylenblau 714
Eosinophile Zellen (Blut) . . . 714 ff., 725
- - (Hypophysis) . . 1266
Epidermicula 1327
Epidermiszellen . 1291 ff.
Epiphysis 1269
Epithelfasern . 674, 1307
-, Färbung nach Beneke 747
-, - - Heidenhain . 1311
-, - - K. Herxheimer 1308
-, - - Krohmayer . 1308
-, - - Pasini 786
-, - - Unna 674
Epithelkörperchen. . 1272
Epithelien 655
- der regio olfactoria 1400 f.
- - - respiratoria . 1399
Epithelverteilung . . 675
Erhitzen der Blutpräparate 465
Erlickische Flüssigkeit 131
Erwärmbarer Objekttisch. 85
Erythrosin 413
-, Methylenblau (Held) 952, 958

§§
Erythrocyten . . 679ff.
–, basophile Punktierung 728
Erythrophoren . 617, 618
Essigsäure 138
–, Einwirkung auf Blutkörperchen . . 680
–, – – elastisches Gewebe 769
–, – – kollagenes Gewebe 761
Essigsaures Kalium 475, 740
– Kupfer 994
Essigsäure-Methylgrün 513
Euparal (Einschlußmittel) 492
Explantation . . . 70ff.

F.

Facette des Mikrotommessers . . . 253, 256
Fällungskraft der Fixierungsmittel . . 91 f.
Färbbarkeit, Herstellung ders. 398
Färbegestell nach Hauser 298
Färbung, adjektive . 321
–, allgemeines 313 ff., 373 ff.
–, Differenzierung . . 320
–, direkte 321
–, Doppelfärbung . . 408
–, Einfluß der Fixierung 325
–, Fixierung derselben 382, 383, 400, 401, 1044 ff.
–, mikrochemische . 314
–, progressive . 320, 321
–, regressive . . 320, 323
–, simultane 408
–, substantive. . . . 321
–, sukzedane 408
–, Theorie der . . . 316
–, vitale . . . . . 450ff.
Färbemethoden:
Acridinrot 794
Acridinrot-Wasserblau-Pikrinsäure (Traina) 794
Alaunkarmin . . . 336
Alizarin . . . . 460ff.
Alkannatinktur . . 1302
Alkoholische Boraxkarminlösung . 338
nach Altmann . . 554
Alzheimers Gliazellfärbung 1025
Alzheimers Säurefuchsin-Lichtgrün 957
Anilinblau . . . 781 ff.
Ammoniakal. Karmin (Ganglienzelle) 975

§§
Färbemethoden:
Apathys Hämatein I A 350
nach Aßmann . . 716
Azokarmin-Mallory 785
Azur 717
Azur-Eosin n. Maximow 442
Aurantia-Vitalfärbung 466
Aurantia-Säurefuchsin-Toluidinblau 555
Aurantia-Eosin-Indulin (Blut) . . 725
Bartels Gliafärbung 1017
Bendas Kristallviolett-sulfalizarins. Natr. (Glia) 1019
– – – (Plastosomen) 550
– Orcein 820
– Safranin-Lichtgrün 523
– Säurefuchsin-Pikrinsäure . . 417
Benzoreinblau-Eosin-Phloxin-Pikrinsäure 1320
Berlinerblau . . . 646
Bests Glykogenfärbung 598
Bethes Neurofibrillenfärbung 977, 1036
Bismarckbraun 404, 466
Blauschwarz . . . 789
Bleu de Lyon . . 429
Bleu de Lyon-Muci-karmin 827
Bleu de Lyon-Pikrinsäure 431
Böhmers Hämatoxylin 354
Boraxkarmin, alkoholisch. 337
–, wässerig . . . 338
–, Bleu de Lyon-Pikrinsäure . . 429
–, Indigokarmin . 423
–, Indigokarmin-Fuchsin S . . . 428
–, Indulin 1146
–, Lichtgrün . . . 521
Bordeaux R . . . 360
Brillantkresylblau 459, 466
Brillantschwarz-Toluidinblau-Safranin 911
nach Cesaris-Demel 459
Cinchonin 785
Cochenilletinktur . 340
– Eisenalaun . . . 1444
Chromalaun-dioxy-Hämatein(Hansen) 305

Färbemethoden:
Chromsäure-Hämatoxylin (Verocay) 800
Cowdrys Plastosomenfärbung . . 553
Chromotrop 2 R . 793
Dahlia . . 726, 1306
Delafields Hämatoxylin 351
Dominici-Färbung. 440
Delamaresche Färbung 420
Dopa-Reaktion für Blut 742
Ehrlich-Biondische Färbung . . . 436 ff.
Ehrlichs Hämatoxylin 353
Eisenalauncochenille 1444
Eisenhämatoxylin nach M. Heidenhain) . . . . 358 f.
– – Regaud . . . 552
– – Weigert für Kerne 362
– – – – Markscheiden 994
Eisenhämatoxylin-Thiazinrot . . . 912
Eosin 410
Eosin-Aurantia-Indulin 725
Eosin-Hämalaun . 410
Eosin-Methylblau n. Mann 1025
Eosinsaures Methylenblau 714
Erythrosin 413
Erythrosin-Methylenblau (Held) . 952
Fettponceau . . . 574
Fieandts Gliafärbg. 1024
Flemmings Dreifachfärbung 528
Fraenkels Markscheidenfärbung . . 1007
Friedlaenders Hämatoxylin . . . 352
Fuchsin 405
Fuchsin S. 414
Fuchsin S.-Anilinblau-Orange . . 781
Fuchsin S-Lichtgrün 957
Fuchsin S-Pikrinsäure 363, 415—418, 554
Fuchsin S-Pikroindigokarmin . . 428
Fuchsin S-Toluidinblau-Aurantia . 555
Gentianaviolett 406, 528
– nach Gram 407, 1254
Giemsafärbung, Ausstrich . . . 717

§§

Färbemethoden:

Gentianaviolett nach nach Giemsa . . . 445
- nach Maximow . 442
- für Schnitte 442, 445
- nach Schmorl .1286
- - Schridde . . . 740
- - Schaudinn . . 445
van Giesonsche Färbung s. d. . . 795ff.
Goldmethoden s. d.
Goldchlorid-Jodjodkaliummethode (Bindegewebe) . 811
Golgis Methoden s.d.
Gramsche Methode 407
Grenachers Karmin 336
Hämalaun (P. Mayer). . . 344, 349
Hämalaun-Eosin . 410
Hämalaun - Magentarot-Lichtgrün .1169
Hämatein 342
Hämatoxylin s. d.
Hämatoxylin - Eosin 410ff.
Hämatoxylin-Fuchsin S . . . 414
Hämatoxylin-Indigokarmin . . . 423
Hämatoxylin - Lichtgrün 414
Hämatoxylin-Orange 414
Hämatoxylin - Orcein-Fuchsin S-Pikrinsäure . . 420
Hämatoxylin - Pikrinsäure-Fuchsin S 363, 415ff., 418
Hämatoxylin - Rubin-Ammoniumpikrat 417
Hämatoxylin - Safranin (Unna) . 526
Hansens Bindegewebsfärbung . . 796
- Chromalaundioxyhämatin 365
- Hämatoxylin . . 355, 356
Helds Gliafärbung 102
M. Heidenhains Hämatoxylin . 358f.
R. Heidenhains Hämatoxylin . . 369
Herxheimers Epithelfibrillenfärbung 1308
- Fettfärbung 579, 580
- Fibrillenfärbung (Azur-Tannin) .1319
Hornowskis Färbg. 816
Hueters Bindegewebsfärbung . . 798

§§

Färbemethoden:

Janusgrün 463
Janusgrün-Neutralrot 464
Indigokarmin . . . 423
Indulin 471
Indulin-Aurantia-Eosin 725
Jodeosin 413
Jodmethylviolett .1326
Karbolfuchsin . . 733
Karbolthionin nach Nicolle 862
nach Kardos . . . 722
Karmalaun 333
Karmalaun-Indigokarmin 423
Karmalaun-Pikroindigokarmin . . 427
Karminfärbung s.d.
Karmin-Bleu de Lyon 429
Karmin-Lichtgrün. 521
Karmin-Indigokarmin 423, 427
Karmin-Methylenblau-Chr motrop 2 R 826
Karmin-Osmium-Holzessig. . . . 432
Karmin-Pikrinsäure 421
Karmin-Pikroindigokarmin-Säurefuchsin 428
Karminvitalfärbung 468
Kernfärbung . . 332ff.
Klarfelds Modifikation der Achúcarro-Färbung . 818
Kockels Fibrinfärbung 748
Kongorot Magen .1128
- Eleidin 1303
Krapp 460, 880
Kresofuchsin s. Resorcinfuchsin.
Kresylechtviolett .1300
Kresylviolett R . 406
Kristallviolett . . 550
Kulls Plastosomenfärbung 555
Kultschitzkys Hämatoxylin 999
Leukomethylenblau 612
Lichtgrün . . 360, 414
Lichtgrün-Karmin 521
Lithionkarmin . . 339
Loewits Goldmethode 1050
Magentarot . 425, 426
Magentarot-Hämalaun-Lichtgrün 1169
Magentarot-Pikroindigokarmin . . 426

§§

Färbemethoden:

Mallorys Bindegewebsfärbung . 781
- - Modifik. v. Heidenhain 785
- Hämatoxylin 366—367, 1024
Manns Methylblau-Eosin 1025
Marchis Markscheidenfärbung . . .1011
Maximows Azur-Eosinfärbung . . 442
May-Giemsa Ausstrich 720
- - (Schnitt) . . 446
- Grünwald . . . 714
Mayer P. Hämalaun 344, 349
-, Karmalaun . . 333
-, Muchâmatein . .1140
-, Mucikarmin . .1139
-, Parakarmin . . 334
-, Thionin-Weinsteinsäure . . . 951
Methylblau-Eosinlösung nach Mann 1025
Methylenazur. . . 719
Methylenblau (für Blutzellen) . . . 728
Methylenblau-Eosin 433, 714
Methylenblau, eosinsaures . . 714ff.
-, Nervenfärbung .1043
-, Knorpel 826
-, Vitalfärbung . 453f.
-, polychromes s.d. 744
-, -, Karbolfuchsin 732
Methylgrün . . 402, 433
Methylgrün-Essigsäure 513
Methylgrün-Fuchsin S-Orange . 436f.
Methylgrün-Orange n. Pappenheim . 724
Methylgrün-Orange-Giemsa n. Pappenheim-Kardos 722ff.
Methylgrün-Pyronin 434
- - n. Flemming . 522
- - für Plasmazellen 745
Methylgrün-Pyronin-Orange G . 433, 435
Methylviolett B Glia) 1016
- 5 B (Glia) . . .1016
Metzners Pikrinsäurealkohol . . 555
Michailows Nervenfärbung 1065

Färbemethoden: §§

Molybdänhämatoxylin-Säurefuchsin-Pikrinsäure 1416
Muchhämatein 1140
Mucikarmin 1139
Naphtholgelb 449
Naphtholschwarz 792
Neutralrot n. Arnold 457
–, Knochenfärbung 880
–, Vitalfärbung 455–458
Neutralviolett extra 615
Nigrosin 790
Nilblau (Vitalfärbung) 466
Nilblausulfat 581
Nißls Ganglienzellenfärbung 945
Obsts Nucleolenfärbung 521
Oppels Karmin-Pikroindigokarmin-Pikrinsäure-Säurefuchsinfärbung 428
Orange G 360, 414
Orange G-Anilinblau-Säurefuchsin 781
Orange G-Eosin-Toluidinblau 440
Orange G-Jodeosin-Toluidinblau 441
Orange G-Methylgrün 724
Orange G-Methylgrün-Pyronin 433, 435
Orange G-Rubin S 865
Orcein 818, 848
Orcein-Hämatoxylin-Fuchsin S-Pikrinsäure 420
Orths Karmin 339
Osmium-Hämatoxylinmethode von O. Schultze. 371
Palsche Markscheidenfärbung 1001
Pappenheim-Kardoslösung 722, 739
Pappenheims Methylgrün-Pyroninfärbung 434
– Panchromfärbg. für Schnitte 448
– – – Ausstriche 721
– Panoptisches Gemisch f. Ausstriche 720
– – – – Schnitte 446
– Triacidfärbung 730
Parakarmin 334
Parakarmin-Pikroindigokarmin 427
Pasinisfärbung 786
Pikrinsäure 421

Färbemethoden: §§

Pikrinsaures Ammoniak 419
Pikrinsäure-Bleu de Lyon 431
Pikrinsäure-Säurefuchsin (Benda). 417
– – (Hansen) 796
– – (van Gieson) 415
– – (nach Schaffer) 797
– – (Weigert) 363
Pikrinsäure-Säuregrenat 791
Pikroblauschwarz 789
Pikrofuchsin s. Pikrinsäure-Säurefuchsin 427
Pikroindigokarmin 427
Pikroindigokarmin-Magenta 426
Pikrokarmin 422
Pikronigrosin 790
Polychromes Farbgemisch TEN n. Salkind 449
– Methylenblau (Plasmazellen) 744
– – (für Ganglienzellen) 953
– – (für Hypophysis) 1266
– – (für Thyreoidea) 1262
– – (für Markscheiden) 1007
– – Karbolfuchsin 732
Purpurin 651
Pyronin 434
Pyronin-Methylgrün 434, 522, 745
Pyronin-Methylgrün-Orange 433, 435
Pyrrholblau 465
Rankes Modifikation der Achúcarromethode 809
Regauds Hämatoxylinfärbung 552
Resorcin-Fuchsin 814 ff.
Ribberts Bindegewebsfärbung 799
Romanowsky-Färbung 717
Rongalitweiß 612
– (Nervenfärbung) 1048
Rubin 405
Rubin S S-Ammoniumpikrat 419
Rubin S 360
Rubin S-Orange 865
Säurefuchsin s. Fuchsin S
Safranin 392
– (nach Babes) 395
– (nach Flemming) 394

Färbemethoden: §§

Safranin (nach Schuberg) 396
– (nach Winiwarter) 393
– – Gentianaviolett 1254
– – Gentianaviolett-Orange 528
– – Indigokarmin 244, 526
– – Lichtgrün nach Benda 523
– – Pikrinsäure 393
– – Pikroindigokarmin 427
Scharlach R 579
Schueninoffs Fibrinfärbung 749
– Hämatoxylin (= Mallorys H.) 366
Schultzes O. Hämatoxylinfärbung 371
– Myofibrillendarstellung 918
Seifenmethylenblau 946
Sudan III-Fettfärbung 575 ff.
– Vitalfärbung 459
Taenzer-Unnasche Orceinfärbung 818
Thiazinrot 910
Thiazinrot-Thionin 910
Thionin 399
Toluidinblau 399, 440, 441
Toluidinblau-Erythrosin-Naphtholgelb (Salkind) 449
Toluidinblau-Orange-Eosin 440
Toluidinblau-Safranin 1285
Trainasche Färbung 794
Triazidgemisch (Schnittfärbung) 436
– f. Blutausstriche 729
– nach Pappenheim 730
Triglyzeringemisch 725
Trypanblau 465, 469
Urannitratsilbermethode s. d.
Unnas Oxydase-Reaktion 612
– Färbung der sauren Kerne 526
Unna-Ziehlsche Färbung 732
Vanadiumhämatoxylin 368
Van Giesons Färbg. 415 ff.
Verocays Bindegewebsfärbung 800
Versilberungsmethoden s. d.
Vesuvin 756
Vitale Färbung s. d. 450 ff.

§§

Färbemethoden:
Wasserblau-Eosin-Phloxin . 532, 1320
Wasserblau-Eosin-Phloxin-Echtgelb 1320
Wasserblau-Orcein 674, 787
Wasserblau-Orcein-Eisessig 787
Wasserblau-Orcein-Eosin 674
Wasserblau-Pikrinsäure-Magentarot 794
Weigerts Elastinfärbung 814
– Fibrinfärbung 746, 747
– Hämatoxylin (f. Kerne) 362
– – (f. Markscheiden) 994
– Lithionhämatoxylin . . . 995, 998
– Neurogliafärbung 1012
Woronins Faserfärbung 673
Färben unaufgeklebter, nicht entparaffinierter Schnitte . . . 305
Färbetechnik, Einübung 328
Färbung . . . . . 313ff.
– durch Osmiumsäure nach Schultze . . 371
– – – – Woronin . . 673
Fairchilds Porzellansiebe 108
Farbgläser . . . . 297f.
Farbstifte 390
Farbstoffe, Reinheit der – 317
Farbtabletten 390, 715, 719
Fermente, Nachweis . 605
Fernrohrlupe 3
Ferriammoniumsulfat 359
Ferricyankalium (Eisennachweis) 644
Ferridammonium tartaric. 778
Ferricyankalium-Boraxlösung (zum Differenzieren). . . . 994
Ferricyankalium-Lithium-Larbonat (zum Differenzieren) . . 999
Ferrocyankalium (Eisennachweis) 646
Fett . . . . . 566ff.
– und Eisen 1112
– – elastisches Gewebe 817
–, Entfernung aus Geweben bei Gefrierschnitten 265

§§

Fett, Entfernung aus Geweben bei Verdauung 780
–, Färbung mit Aceton-Scharlach R . 580
–, – – alkalisch-alkoholischer Scharlach R-Lösung 579
–, – Fettponceau . . 574
–, – Nilblausulfat . . 581
–, Osmiumsäure. . . 567
–, – Scharlach R . 579ff.
–, Sudan III . . . 575ff.
–, Fixierung
–, – nach Ciaccio . . 509
–, – mit Formol 570, 575
–, – mit Osmiumsäure 567
–, frisches Präparat . 566
– und Glykogen . 603f.
Fettgewebsnekrose nach Benda . . .1174
Fette, Neutral- . . 566f.
Fettponceau 579
Fettresorption . . .1130
Fettsäuren: Färbung 581
–, Nachweis nach – 582ff.
–, Kalium- und Natriumsalze der – . 584
–, Unterscheidung von Eisen 583
–, – – Kalk 583
–, – – Seifen . . . 585
Fibrillen des Epithels 1307ff.
– – Dentins 874
– der Ganglienzellen 977ff.
– des Knochens . . 866
– – Knorpels. . . . 829
– – Muskels . . . 909ff.
– der Nerven. . . 1036f.
– – Sehnen . . . 918f.
Fibrinfärbung nach Beneke 747
– – Kockel. 749
– – Schueninoff . . 749
– – Weigert 746
Fieandts Gliafärbung 1024
Filterflüssigkeit . 23, 24
Firnissen der Deckglasumrandung . . . 483
Fischeier . . . 1421ff.
Fischbruttröge . . .1423
Fischers Elastin-Fettfärbung 817
Fischlers Nachweis der Fettsäuren 582
– – – Fettseifen . . 585
Fixiernatron zur Jodentfernung 176
– – Silberentfernung 802
Fixation, Allgemeines 89f.
– von Blutausstrichen 696
–, Bedeutung des Diffusionsvermögens . 95

§§

Fixation, Bedeutung der Temperatur . . 94, 99, 100
–, Dauer 96
–, Einfluß des Lichtes 137
– von Gewebekulturen 88
– durch Injektion. . 101
–, Nachbehandlung 106ff.
– von Organausstrichen 705
– von Spermien . .1250

Fixationsmethoden
–, Aceton 112
–, Aceton-Eisessig-Formol-Sublimat .1345
–, Aceton-Salpetersäure 1040
–, Alkohol . . 113, 1291
–, – (für Glykogen) 594, 598
–, Alkohol-Äther-Celloidin 121
–, Alkohol-Chloroform-Eisessig 118
–, Alkohol-Chlorzink . 120
–, Alkohol-Eisessig . 117
–, Alkohol-Formol. . 119
–, Alkohol-Osmiumsäure 603
–, Alkohol-Sublimat . 182
–, Altmann-Gemisch . 537
–, Ammoniumbichromat 1021
–, Arsenige Säure-Formol 560
–, Ameisensäure-Kaliumbichromat . . 588
–, Bendas Gemisch . 535
–, Bensleys Methode 544
–, Björkenheims Methode 559
–, Bouins Gemisch . 163
–, Cadmiumformol. 1010, 933
–, Cajals Modifikation der Golgi Methode 967
–, Cajals Neurofibrillenfixierung . . . 988
–, Cajals Silbermethode 960
–, Cajals Uranvitratmethode 557
–, Carnoys Flüssigkeit 118
–, Champys Flüssigkeit 540
–, Chloralhydratlösung 496, 1061, 1378
–, Chromalaun . 542, 543
–, Chromessigsäure . 124
–, Chromoform . . . 132
–, Chromosmiumessigsäure nach Flemming (stark) . . . 125

§§
Fixationsmethoden:
–, Chromosmiumessigsäure nach Flemming (schwach) . . 126
–, – – Fol 127
–, Chromsäure 122, 1426, 1427
–, Chromsäure-Sublimat-Eisessig . . 1466, ... 1466, 1456
–, Ciaccios Lipoidfix. 588
–, Dampfgemisch nach Werzberg 702
–, Doppeltchromsaures Kali 128
–, Dubreuils Flüssigkeit 541
–, Erlickische Flüssigkeit 131
–, Essigsäure 134
–, Flemmingsche Lösung . . . . 125f.
–, Folsches Gemisch 127
–, Formol 139
–, Formolalkohol . . 119
–, Formol-Calcium salicylic. 584
–, Formol-Chloralhydrat-Glyzerin 496
–, Formol-Kaliumbichromat-Eisessig (Ciaccio) 588
–, Formol-Kaliumnitric.-Kal. acetic 495
–, Formol Müllersche Flüssigkeit (Orth) . 132
–, Formol-Osmiumsäure-Zenkersche Flüssigkeit 736
–, Formol-Pikrinsäure-Eisessig 163
–, Formol-Silbernitrat 1347
–, Formol-Uranni trat 557
–, Formol-Zenkersche Flüssigkeit (Helly) 185
–, – – – (Maximow) . 736
–, Geleis Gemisch . 603
–, Gilsonsche Flüssigkeit 187
–, Heldsches Gemisch 101, 1372
–, Hellysche Flüssigkeit 185
–, Hermanns Gemisch 158f.
–, Jod-Formol-Osmiumsäure-Eisessig 702
–, Kaliumbichromatgemische s. d.
–, Kaliumbichromat 128ff.
–, Kaliumbichromat-Chromalaun-Formol 542
–, Kaliumbichromat-Essigsäure 133

§§
Fixationsmethoden:
–, Kaliumbichromat-Formol (Plastosomen) 538, 539
–, – – (chromaff. Gewebe) 1284
–, Kaliumbichromat-Formol-Eisessig nach Held 101, 588
–, – – – – Kolmer 1372, 1389
–, – – – – Regaud .1256
–, – – – Wittmaak .1391
–, Kaliumbichromat-Formol-Sublimat-Eisessig 101
–, Kaliumbichromat-Osmiumsäure 154, 1159
–, – –, Salpetersäure 1160
–, Kiyono-Fixierung . 543
–, Kleinenbergs Fixierungsgemisch . . . 164
–, Kolmers Fixierungsgemisch 1372
–, Kolsters Fixierung 542
–, Kopschs Fixierungsgemisch 534
–, Levis Fixierungsgemisch 1232
–, Marchis Gemisch .1011
–, Maximows Gemisch 186, 736
–, – Modifikation von Levi 1232
–, Merckelsche Flüssigkeit 172
–, Metznersche Flüssigkeit 1159, 1160
–, Mevessche Flüssigkeit 536
–, Müllersche Flüssigkeit 130
–, Müllers Cadmiumformol 1010, 933
–, Orths Gemisch . . 132
–, Osmiumsäure . . 148ff.
–, Osmiumsäure nach Kopsch 562
–, Osmiumsäure-Gemische s. d.
–, Perényische Flüssigkeit 190
–, Petrunkewitschs Gemisch 144
–, Phosphorwolframsäure-Alkohol-Eisessig 161
–, Pikrinessigsäure. . 162
–, Pikrinformoleisessig 163
–, Pikrin-Osmium-Essigsäure 167
–, Pikrin-Osmium-Platinchlorid-Essigsäure 168
–, Pikrinsäure. . . . 162

§§
Fixationsmethoden:
–, Pikrinsäuregemische s. d.
–, Pikrinsalpetersäure 165
–, Pikrinschwefelsäure 164
–, Pikrinsublimat . . 166
–, Pikrinsublimat-Osmiumsäure . . . 169
–, Platinchlorid . . . 170
–, Platinchlorid-Chromsäure 172
–, Platinchlorid-Osmiumsäure-Eisessig 158
–, Platinchlorid-Sublimat 171
–, Rablsche Gemische 166, 170, 171
–, v. Rathsche Gemische 167, 168, 169
–, Regauds Flüssigkeit 539, 1256
–, Salpetersäure 189, 977, 1464
–, Salpeter-Aceton. .1040
–, Salpetersäure-Silbernitrat 1471
–, Sublimat. 173
–, Sublimatgemische s. d.
–, –, Alkohol . . 182, 443
–, –, Chromsäure-Eisessig . . . 1466, 1456
–, –, Eisessig 183
–, –, Formol 181
–, –, Kochsalz. . 173, 179
–, –, Rohrzucker . 180
–, –, Salpetersäure .1343
–, –, Salpetersäure-Eisessig-Alkohol . . . 187
–,–, Trichloressigsäure-Formol (Romeis) . 194
–, –, – –-Eisessig (»Subtrie« Heidenhain) 192
–, –, – – (»Susa«) . . 193
–, nach Szent-Györgyi 1345
–, Tellyesniczkys Gemisch 133
–, Trichloressigsäure 191
–, Trichlormilchsäure 604
–, Überosmiumsäure s. Osmiumsäure
–, Urannitrat-Formol 557
–, Uranylacetat-Trichloressigsäure . . 195
–, Uranylacetat-Trichloressigsäure-Kaliumbichromat . .1372
–, van Gehuchtens Gemisch 118
–, Werzbergs Dampfgemisch 702
–, Wiesels Nebennierenfixierung 1284

§§
Fixationsmethoden:
–, Wittmaacksche Flüssigkeit 1391
–, Zelloidin 121
–, Zenkersche Flüssigkeit s. d. 184
–, Zieglwallners Glykogenfixierung . . 604
Fixierung von Blutpräparaten . . . 696 ff.
– – Färbungen 382 ff., 400, 401
–, Einfluß auf die Färbung 326, 380
– von Gewebekulturen 88
– – Nervenfärbungen 1044 ff., 1066
– durch Trocknen bei Untertemperatur . 196
– der Vitalfärbung . 466
Flächenhafte Rekonstruktion 498
Flechsigsche Methode 1006
Flemmings Dreifachfärbung . . . . 528 ff.
Flemmingsche Flüssigkeit 125, 126
Flimmerepithelien . . 655
Flüssigkeiten, indifferente 47
Fluoritsystem 11
Fluoritimmersion . . 14
Fluorchrom-Essigsäure-Kupferbeize (Gliabeize) 994
Fluorchrom-Kaliumbichromat (Markscheidenbeize) . . 994
Folsches Gemisch . . 127
Forelleneier 1425
Form zum Einbetten 226
Formaldehyd s. Formol
Formalin, Formol . . 139
–, Neutralisieren derselben 139, 558
Formolgemische
Formol-Alkohol . . 119
– – Calcium salicylicum 584
– – Chloralhydrat-Glyzerin nach Jores. 496
– – Hydrochinon 988, 990, 992
– – Kaliumbichromat 538, 539
– – Kaliumbichromat-Essigsäure nach Ciaccio 588
– – Kalium nitric.-Kal. acetic. 495
– – Müllersche Lösung (Orth) 132
– – Niederschläge (Entfernung). . . 143, 147
§§
Formol-Alkohol, Osmiumsäure-Zenkersche Flüssigkeit . 736
– – Pikrinsäure-Eisessig 163
– – Pyrogallol. . . . 988
– – Silbernitrat . . . 1347
– – Salpetersäure . . 1394
– – Zenkergemisch nach Held 101
– – – Helly 185
– – – Levi 1232
– – – Maximow . . 736
Formol-Urannitrat . 557
Formol-Überfixierung, Beseitigung der –. 146
Fraenkels Markscheidenfärbung 1007
– Säurefuchsin-Tanninlösung 1262
Friedländers Hämatoxylin 352
Frische Präparate 45, 46
Frischfärbung nach Cesaris Demel . . . 459
Fromannsche Linien 1031
Frontlinse 10
Froschlymphe, Gewinnung 75
Frostschnitte 262
Fuchsin 405
– S 414
– S-Lichtgrün . . . 957
– S-Anilinblau-Orange 781
–, – Modifikation von Heidenhain . . . 785
–, Pikrinsäure nach Altmann 555
–, – – Benda 417
–, – – van Gieson . 415
–, – – Hansen . . . 796
–, – – Metzner . . . 555
–, – – Schaffer . . . 797
–, – – Weigert . . . 363
–, Pikrinsäure-Orcein (Delamare) 420
–, Pikrinsäure-Resorcinfuchsin 816
–, Pikroindigokarmin 428
–, Toluidinblau-Aurantia 556
–, Methylgrün-Orange 436
Fundstellen für Pigmente 619

G.

Gabritschewskischalen 83
Galle (Einfluß auf Blutkörperchen) . . . 680
Gallenkapillaren, Darstellung durch Färbung . . . . 1188 f.
–, – – Injektion . 1181 ff.
–, – – Selbstinjektion 1183
–, – – Silbermethode 1186
§§
Gallerthüllen der Amphibieneier . . 1434 ff.
Gallertgewebe . . . 765
Gallussäure (Glykogennachweis) 601
Ganglien 935
Ganglienzellen
–, Darstellung des Golgiapparates . . 959 ff.
–, – der Form (Isolierung) . . . . . 936 ff.
–, – der Kernstruktur 944
–, – des Netzapparates . . . . . 959 ff.
–, – der Neurofibrillen . . . . . 977 ff.
–, – der Neurosomen 957 f.
–, – der Nißl-Substanz 945 ff.
–, – der Plastosomen 955 ff.
–, – der Tigroidschollen . . . . . 945 ff.
–, – der Zellfortsätze 962 ff.
–, Darstellung **durch** ammoniakalisches Karmin . . . . 975 f.
–, – – – Silberoxyd 984 ff.
–, – – Ammon. Molybd.-Toluidinblau 977
–, – – Erythrosin-Methylenblau . . . 952
–, – – Kaliumbichromat-Formol-Silbernitrat 969
–, – – Kaliumbichromat-Osmiumsäure-Silbernitrat. . . . 967
–, – – Kaliumbichromat-Silbernitrat 964 ff.
–, – – Kaliumbichromat-Sublimat. . . 970
–, – – kolloidalem Gold 993
–, – – Methylenblau-Seifenlösung . . . 946
–, – – Methylgrün-Pyronin 954
–, – – Nachvergoldung 981
–, – – Plumbum aceticum 973
–, – – polychromes Methylenblau-Methylgrün-Pyronin . 953
–, – – Pyridin-Silbermethode 985
–, – – Pyronin-Weinsteinsäure 951
–, – – Säurefuchsin-Lichtgrün 957
–, – – Thionin-Weinsteinsäure . . . 951
–, – – Toluidinblau . 948
–, – – Vorvergoldung 980

§§

Ganglienzellen, Darstellung nach Agduhr 986
–, – – Alzheimer . . 957
–, – – Apathy . . . 979
–, – – Bethe 977
–, – – Bielschowsky 983 ff.
–, – – Cajal (Bienenapparat) 960
–, – – – (Modifikat. Golgimethode) . . 967
–, – – – (Neurofibrillen) 988
–, – – Corning . . . 973
–, – – Cowdry . . . 958
–, – – Cox 970
–, – – Donaggio . . 978
–, – – Forel 976
–, – – Gerlach . . . 975
–, – – Golgi . . . 962 ff.
–, – – Gros-Schultze 987
–, – – Held 952
–, – – Joris 993
–, – – Kallius . . . 972
–, – – Kopsch . . . 969
–, – – Lenhoff . . . 953
–, – – Liesegang . . 989
–, – – P. Mayer . . . 951
–, – – Marcona . . . 961
–, – – Schultze . . . 992
–, – – Stuurman . . 950
Gaskells Gelatineeinbettung 241
Gebrauchter Alkohol, Reinigung 107
Gedehnter Muskel . . 914
Gebrauchtes Toluol, Reinigung 302
Gefäße, Lebendbeobachtung 66, 753 f., 1067 ff.
– im Aufhellungspräparat 1094, 494
–, Endothel 664
–, Färbung 1067
–, Fixierung . . . 1067 ff.
–, Injektionsmethoden . . . . . 1073 ff.
Gefrieren 262
Gefriermikrotom . . 262
Gefrierschnitte, Auffangen derselben . 264
–, Aufkleben . . 294, 295
–, Entfetten 265
–, Weiterbehandeln 312 f.
Gehirn s. a. Zentralnervensystem . 934—1027
Gehörorgan . 1386—1397
Gelatine zum Aufkleben von Celloidinschnitten 291
– – – Gefrierschnitten 295
– – – Paraffinschnitten . . . 285 f.

§§

Gelatine als Einbettungsmittel 197, 198, 239 ff.
– – Einschlußmittel (Deckglasersatz) . 484
–, Glyzeringelatine . 474
– zur Injektion . . .1084
–, kaltflüssige 1088
–, Kapseln zum Einbetten 230
–, Karminmasse . .1084
Gelcis Glykogendarstellung 603
Genitalorgane 1225—1260
Gentianaviolett . . . 406
Gentianaviolett-Anilinwasser nach Gram 407
– – – Weigert . . . 746
Gentianaviolett-Safranin-Orange (Flemming) 528
Gerbsäure 808
Gerinnen von Plasma 72, 74
–, Verhinderung desselben 73
Gerlachsche Karminmethode 975
Gerotas Injektionsmasse für Lymphgefäße 1094
Geruchsorgan 1398—1402
Geschlechtsorgane 1225—1260
Geschmacksknospen 1116
Geschmacksnerven .1117
Gesichtsfeld 33
Gewebekultur . . 67 ff.
–, Anlegen derselben 70 ff.
–, Einfluß der Temperatur 85
–, – – Konsistenz des Nährmediums . . 86
–, Fixierung 88
–, Verjüngung . . . 81
Gewebesaft 46
Gianuzzische Halbmonde 1162
Giemsafärbung an Ausstrichen 717
– nach Herxheimer .1319
– nach Maximow . . 442
– nach Schaudinn . 445
– – Schmorl (Nebenniere) 1286
– für Schnittpräparate . . . . .442—445
– nach Schridde . . 740
Giemsalösung, Herstellung . . . 710 f. 718
–, Verdünnung . . . 712
Giemsalösung-Tannin 1319
v. Gierkes Oxydasereaktion 741

§§

van Giesonsche Färbung 415
– – Modifikation von Apathy 419
– – – – Benda . . . 417
– – – – Hansen . . . 796
– – – – Schaffer . . 797
– – – – Weigert . . 363
Gilsonsche Flüssigkeit 187
Gipsniederschlag . . 164
Gitterfasern der Leber 1191
– – Milz . . . . . 1106 f.
Glandula bulbo-urethralis 1260
Glaskörper 1345
Glastinte 269
Glatte Muskulatur 925—933
– Färbung 931
– Fixierung 931
– Isolierung . . . 925 ff.
– Lähmung 1079
Glia s. Neuroglia
Gliazellen, amöboid .1025
Gliosomen 1025
Glimmer, Deckglas aus 36
Glyzerin-Äthermischg. (nach Unna) 744, 1262
Glyzerin (Einschluß) 471
Glyzerin-Eiweiß (Aufkleben) 278
Glyzerin-Gelatine (zur Einbettung) . . 239 ff.
Glyzerin-Gelatine (als (Einschlußmittel) . 474
Glyzerin für Kaiserlingsche Methode . 495
Glykogen . . .594—604
–, Darstellung nach Best 598
– mit Eisentinte nach P. Mayer 601
–, Jodreaktion . . . 596
– nach Vastarini Cresi 602
– und Fett, gleichzeitige Darstellung nach Gelei 603
– – –, – – – Zieglwallner 604
Gold, kolloidales . . 993
Goldchlorid 980, 1050 ff.
Goldchlorid-Ameisensäure . . . . 1050 f.
Goldchloridjodkaliummethode 811
Goldchloridkalium .1358
Goldmethoden
– nach Apathy . . . 979
– – Böhm 1337
– – Goldscheider . .1340
– – Joris 993
– – Krause 811
– – Golgi 1054
– – Kühne 1051

§§

Goldmethoden nach Lepkowsky . . . 876
– – Loewit-Fischer .1050
– – Merton 1060
– – Muschenkoff . .1055
– – Nabias 1059
– – Ranvier . 1052, 1358
– – Retzius 906
– – Rollet 906
– – Stöhr 1058
Goldimprägnation des Auerbachschen Plexus 1150
– – Bindegewebes. . 811
– der Cornea . . . 1358f.
– – Ganglienzellen . 979
– des Meißnerschen Plexus 1150
– der Nervenendigungen . . . . . 1049ff.
– – Neurofibrillen. . 979
– – peripheren Nervenfasern . . 1049ff.
Golgis Binnenapparat . . . . .557—565
– –, Darstellung nach Björkenheim . . . 559
– –, – – Cajal . . . 557
– –, – – Golgi . . . 560
– –, – – Kopsch . . 562
– –, – in Nervenzellen . . . . . 989ff.
– Goldmethode . . .1054
– Nervenendorgane .1056
– Silbermethode (langsame) 965
– – (rasche) 966
– – (modif. von Cajal) 967
– –(modif. von Kallius) 972
– – für Sekretkapillaren 1126
Golodetz' Cholesterinnachweis 587
Gräffs Oxydasereaktion 606
Grams Anilinwassergentianaviolett . . 407
– Jodjodkaliumlösung 407
Grandrysche Körperchen 1336
Granoplasma (Nervenzelle) 953
Granula, Granula-Methode Altmanns 537, 555
– in Blutzellen 714ff., 735
– – –, Trennung von α und β-Granulationen 725
– – –, Darstellung v. g-Granulationen . 726
– – –, – – δ-Granulationen 728

§§

Grauula in Blutzellen
Darstellung von ε-Granulationen . . 729
– – –, basophile Punktierung . . . 728
– – – und »Dopa«-Reaktion 742
– – – und Oxydasereaktion 741
– – – und Trypanblaufärbung . . . 743
– in Drüsenzellen . 1153, 1158ff.
– – Leberzellen . . 1178
– – Muskelzellen . . 371
– – Nebennierenzellen 1290
– – Nervenzellen . 956ff.
– – Pankreaszellen .1169
Graphische Isolierung 500
Grenachersche Karmine 336
Großers Injektionsmasse 1089
Grundplatte zum Einbetten 226
Guaninkristalle . . . 641
Guanophoren . 624, 636, 641ff.
Gummi arabicum . . 989
Gummisirup 477
– nach Kasacinoff. . 589

H.

Haare 1321
Haarentwicklung . .1323
Haarscheiden . . .1326
Haarwechsel 1323
Hämalaun (P. Mayer) 344
– (neue Methode P. Mayer). 349
Hämalaun-Eosin . . 410
Hämalaun-Indigokarmin 423
Hämalaun-Magentarot-Lichtgrün . . .1169
Hämatein 342
Hämatoidinkristalle 616, 619, 752
Hämatoxylin 341
– nach Apathy . . . 350
– – Böhmer . . . 354
– – Delafield . . . 351
– – Ehrlich 353
– – Friedländer. . . 352
– – Hansen . . 355, 365
– – Heidenhain M. 358f.
– – R.. 369
– – Kultschitzky . . 592
– – Mallory 366
– – P. Mayer, Hämalaun 344, 349
– – –, Muchämatein 1140
– – Pal 1001
– – Regaud 552
– – Schueninoff . . 798

§§

Hämatoxylin nach O. Schultze 371
– von Szüts 367
– Unna 356
–, Vanadiumhämatoxylin 368
– – Weigert (Lithionhäm.) 996, 998
– – –, Hämatoxylin für Kerne 362
– – –, – – Markscheiden 994
– – Wolters 1002
Hämatoxylin-Eisessig 353
– Eosin 410
– Fuchsin S-Pikrinsäure nach Benda. 417
– – – nach van Gieson 415
– – – nach Hansen . 796
– – – Weigert . . . 418
– Indigokarmin . . . 423
– Kongorot 1128, 1303, 1146
– Orange G 414
– Pikrinsäure . . . 870
– Rubin-Ammoniumpikrat 417, 419
– Safranin-Tannin (Unna, saure Kerne) 526
Häminkristalle . . . 751
Hämoglobin 738
–, Kristalle 751
Hämolymphe . . . 76
Hämolymphdrüsen .1096
Hämosiderin . . 616, 619
Härtung 55, 105
Halbeintrocknung Ranviers 759
Hallsche Eisenreaktion 647
Hamburgers Injektionsmasse 1090
Hansens Bindegewebsfärbung 796
– Chromalaundioxyhämatein. 365
– Hämatoxylinreifung 355
– Knorpeldemaskierung 829
Hardersche Drüse .1385
Harnblase 1224
Harnkanälchen . 1212ff.
Harnsäure (Nachweis) 1223
Harnstoff (Nachw.) .1223
Haugs Phloroglucin-Salpetersäure . . 858
Hauptzellen 1124
Haut . . . .1291—1341
–, Einbettung . . .1293
–, Eleidin 1302
–, Epithelfasern . .1307
–, Haare . . . . 1321ff.
–, Hornsubstanzen .1298

§§

Haut, Kapillaren . . 66
–, Keratin 1298
–, Keratohyalin . . .1300
–, kollagenes Gewebe 1315ff.
–, Nagel 1312
–, Nerven . . . 1334ff.
–, Pigment 1333, 616—642
Hautknochen . . .1329
Hayemsche Flüssigkeit 684
Heber nach Mays . 662
Heidenhain M., Azokarmin 785
–, Brillantschwarz-Toluidinblau-Safranin 911
–, Chromotrop . . . 793
–, Fixierungsgemische 191ff.
–, Eisenhämatoxylin . 358
–, Neutralfärbung . . 911
–, Pikroblauschwarz . 789
–, Thiazinrotfärbung. 910
–, Vanadiumhämatoxylin 368
Heidenhain R., Hämatoxylin 369
Heizbarer Objekttisch 85
Helds Fixierungsflüssigkeit 101
– Gliafärbung . . .1023
– Granulafärbung in Ganglienzellen 952, 958
– Molybdänhämatoxylin-Säurefuchsin-Pikrinsäure . . .1416
Hellysche Flüssigkeit 185
Henlesche Scheide .1030
– Schleife 1212
Herbstsche Körperchen 1336
Hermanns Fixierungsgemisch 158
Herxheimers Azur-Eosin-Tanninfärbung 1319
– Epithelfibrillenfärbung 1308
– Scharlach R . . . 579
Herz . . . . . 1062ff.
Herzmuskel 921ff., 1062
Herznerven 1066
Heterogenes Blutplasma. 79
Hisssche Pinsel- und Schüttelmethode 1099, 1100
Histiocyten. 743
Hitzefixation v. Blutpräparaten 698
Hoden . . . . 1252ff.
–, interstitielle Zellen 1276
Höllenstein s. Silbernitrat.

§§

Hohlspiegel. 5
Hollundermark (zum Schneiden) 55
– (für Blutpräparate) 683, 686
Holmgrensscche Kammer 754
Holmgrens Trophospongienmethode . 565
Holzessig. 535
Homogene Immersion 14
Hornhaut . . . .1348ff.
Hornhautkörperchen 1354ff.
Hornowskys Bindegewebsfärbung . . 816
Hornsubstanz. . . .1298
Hühnereiweiß zur Injektion 1089
Hueters Bindegewebsfärbung 798
Humor aqueus . . . 47
Hyaliner Knorpel . 822
Hydrargyrum bichloratum s. Sublimat.
Hydrochinon 989
Hydrochinon-Entwickler nach Kallius . 972
Hydrochinon-Formol (Neurofibrillendarstellg.) 988, 990, 992
Hydrochinon-Gummiarabicum (n. Liesegang) 989
Hypophyse 1265

J.

Janusgrün . . . 463, 464
Japanische Aufklebemethode 282
Immersions-Kondensor 13
Immersionslinsen . . 14
Indifferente Lösungen 46ff.
Indigokarmin 423
Indirekte Färbung . 321
Indulin 1146
Indulin-Aurantia-Eosin 725
Jenners Blutfärbung 714
Injektion, Allgemeines 1073ff.
Injektionsapparat . .1075
Injektion des Darmes 1133
– zur Fixierung (Totalinjektion) . . . 101
– der Gallenkapillaren 1181
– der Gefäße . . .1083ff.
– – – nach Altmann 1091f.
– – – nach Bartels Gerota 1094
– des Hodens . . .1252

§§

Injektioo mit Karmin 468, 743
– nach Kiyono . 468, 743
– der Leber 1181
– – Lunge 1206
– – Lymphdrüse . .1098
– – Lymphgefäße 1094f.
– des lymphoiden Gewebes 1108
– der Milz 1106
– mit Osmiumsäure .1390
– – Pyrrolblau . . . 465
– – Trypanblau 465, 469
– nach Ribbert. 468, 1195
– mit Silberlösungen 1206, 1098, 1071
– mit Tusche. . . .1193
– des Ureters . . .1224
– zur Vitalfärbung 465, 468
Injektionskanülen .1078
Injektionsmassen,
nach Bartels . . .1094
aus Gelatine . 1084ff.
nach Grosser . . .1089
nach Hamburger .1090
nach Krause . . .1085
silberhaltige Gelatine 1071
nach Tandler. . . .1088
Injektionsspritze . .1074
– für Lymphgefäße 1094
Instrumente für Sublimat 177
– – Versilberung . . 669
Intercellularbrücken 671ff.
Interferenzzellen . . 624
Interstitielle Zellen 1276, 1282
Intraepidermale Nervenendigung . . .1339
Intrakardiales Nervensystem 1066
Intravitale Färbung . 450
Involution der Thymus 1274
Jod, Glykogennachweis 596
–, Entfernung durch Fixiernatron . . . 176
– zur Fibrinfärbung . 750
– als Isolierungsflüssigkeit 938
–, Nachweis 654
– zur Sublimatentfernung 175
Jodalkohol 175
Jod-Bleu de Lyon . 430
Jodeosin 413, 441
Jod-Formol-Osmiumsäure-Eisessig . . 702
Jod-Jodkalium 175, 407
Jodmethylviolett . .1326
Jodserum 51, 659, 938
Jodtinktur 175

§§

Jores Konservierungsmethode 497
Joris Goldmethode . 993
Iridocyten 624
Iris . . . . . .1362 ff.
Irisblende 6, 13
Isolationsmittel . 657 ff.
– Ammoniumbichromicum 660
– Ammoniak 1321
– Ammonium causticum 1321
– Ammonium monochromat 1216
– Barytwasser . . . 763
– Chromsäure . . . 660
– Drittelalkohol: 658 (Epoth.), 925 (glatt. Musk.), 1069 (Gefäße), 1369 (Linse), 1399) Nase), 937) (Ganglienz.), 1216 (Niere)
– Essigsäure 904
– Jodserum 659, 51, 938
– Kalilauge 928, 1069, 1215
– Kalilauge (Haar) .1321
– Kaliumbichromat . 660
– Kalkwasser . . . 763
– Kochsalz (Haut) .1316
– – (Spermien) . . .1248
– Magensaft 904
– Müllersche Flüssigkeit 658
– Natronfluorid: 661 (Epith.), 929 (glatte Musk.), 1367 (Linse)
– Natronlauge 1069, 1321
– Neutral. chroms. Ammoniak 1216
– Osmiumsäure . . . 659
– – (Magen- und Darmepithel) 1129
– Rauchende Salpetersäure 926
– Salicylsäure . . . 927
– salizylsaurer Alkohol 908
– Salpetersäure 926, 956, 1214, 1367 (Linse)
– Salzsäure 1213
– Schwefelsäure . .1321
– Trypsin 771
– Weinsäure 1069
Isolierung elastischer Membranen . . .1069
– der Keimblätter .1472
Isosafrol 494
Isotonische Lösungen 47
Jungsches (Thoma) Mikrotom 248

K.

Käfermuskel 905
Kaiserlingsche Konservierungsflüssigkeit 495, 496

§§

Kali aceticum . . . 475
– zur Acetonreinigung 740
– zum Aufhellen . . 475
– – Einschluß . . . 475
– – Konservieren anat. Präparate . 495
Kalialaun (z. Differenzieren) 347
– nach Entkalkung 846, 857
Kalium, Nachweis n. Macallum 650
Kaliumbichromat . 128 ff.
– (zur Isolierung von Ganglienzellen) . . 940
Kaliumbichromat-Gemische
– Kaliumbichromat-Chromalaun (Markscheidenbeizung). 994
– Kaliumbichromat-Chromalaun-Formol-(Plastosomen) . . 542
– Kaliumbichromat-Essigsäure . . . 133
– Kaliumbichromat-Fluorchrom (Markscheidenbeize) . . 994
– Kaliumbichromat-Formol n. Kopsch 538
– – – nach Regaud . 539
– – – nach Wiesel (Nebenniere) . .1284
– – – Ameisensäure n. Ciaccio . . . 588
– Kaliumbichromat-Formol-Eisessig nach Ciaccio . . 588
– – – – nach Held (Kolmer) 101, 1372, 1389
– – – – nach Regaud 1256
– – – – nach Wittmaack 1391
– Kaliumbichromat-Formol-Sublimat-Eisessig 101
– Kaliumbichromat-Osmiumsäure . . 154, 1159
– Kaliumbichromat-Osmiumsäure-Salpetersäure . . .1160
– Kaliumbichromat-Schwefelsäure (Glasreinigung) . 37
– Kaliumbichromatgemisch n. Held 101
– Kaliumbichromat-Trichloressigsäure-Uranylacetat . .1372
Kaliumcausticum . . 881
Kaliumhypermanganat (z. Bleichen) . 548, 1001

§§

Kaliumhypermanganat f. Hämatoxylin 355
– – Reduktionsorte . 613
Kalium sulfurosum-Oxalsäure (Pal). 1001, 548
Kalk, Nachweis. . 651 ff.
–, – nach Grandis u. Mainani 651
–, – – Kossa 652
–, – – Macallum . . 653
–, fettsaurer Kalk, Nachweis n. Benda 1174
–, – –, Nachweis nach Fischler 584
–, kohlensaurer Kalk 851
–, phosphorsaurer Kalk
–, Nachweis im Knochen 859
Kalilauge, Anregung der Flimmerbewegung 655
–, Einwirkung auf Bindegewebe . . . 762
–, – – elast. Gewebe. 769
–, – – glatte Muskulatur 928
Kalkwasser
–, Einfluß auf Bindegewebe 763
–, – – Knorpel . . . 830
Kallius Ganglienzelldarstellung 972
– Entfernung der Eihüllen 1438
Kanadabalsam (Einschluß) 381
–, Erhitzen auf dem Sandbad 487
– (z. Knochenschliff) 891
– (Neutralisieren) . . 487
–, Terpentinöl (Umranden) 479
–, (Verwendung beim Beschriften der Präparate) 270
Kaninchen (Fortpflanzung) 1478
Kapillaren 1071
– (Blutinjektion) . .1073
–, Gallenkapillaren .1181
–, Lebendbeobachtung 66, 753
–, Lymphkapillaren .1094
–, Versilberung 664, 1071
Karbolfuchsin . . . 733
Karbolthionin (Knochenhöhlen) . . . 862
Karbolxylol 378
Kardioidkondensor . 17
Kardosfärbung . . . 722
Karlsbadersalz (Konservierung) 496
Karmalaun 333

§§

Karmalaun-Indigokarmin 423
Karminfärbung . . 332ff.
Karmin-Gelatine (Injektion) . . . . 1084f.
Karminlösungen$_2$
– Alaunkarmin . . . 336
– Ammoniakkarmin . 975
– Bests Karmin . . 598
– Boraxkarmin alk. 337
– – wässer. 338
– Cochenilletinktur . 340
– Eisenalaunc ochenille 1444
– Forels Karmin . . 975
– Gerlachs Karmin . 975
– Grenachers Karmine . . . . . 336ff.
– Karmalaun (P. Mayer) 333
– Lithionkarmin . . 339
– Mucikarmin (P. Mayer). 1139
– Neutrales Karmin 1084
– Orths Karmin . . 339
– Parakarmin (P. Mayer). 334
– Vitalfärbung 468, 734
Karmin-Bleu de Lyon 429
– Indigokarmin 423, 427
Karmin-Lichtgrün . . 521
Karmin-Methylenblau-Chromotrop . . . 826
Karmin-Osmium-Holzessig. 432
Karmin-Pikrinsäure . 421
Karmin-Pikroindigokarmin-Säurefuchs. 428
Karmin-Vitalfärbung 468, 734
Karyokinesen . . 515ff.
Kasarinoffs Gummisyrup 589
Kehlkopf. 1198
Keimbläschen . . . 1431
Keimdrüse . . . 1225ff.
Keimepithel 1234
Kephalopodenknorpel 832
Keratin 1298
Keratohyalin 1300
Kernfärbung . . . 519ff.
Kernfixierung . . 519ff.
Kern im frischen Präparat . . . . . 511f.
–, Verhalten gegen Reagenzien . . . 512ff.
Kernmembran . . . 512
Kernteilung . . . 515ff.
Kittlinienfärbung . . 358
Kittlinienversilberung 664ff.
Kiyonos Plastosomenfixierung 543
Klarfelds Tanninsilbermethode . . . 810

§§

Klassifikation d. Teerfarben 386
Klebwachs 59
Kleinenbergs Fixierungsgemisch . . . 164
Knochen . . .843—896
–, Allgemeines . . . 843
–, Entfettung . . . 887
–, Entkalkung . . . 850
–, Entwicklung . . . 867
Knochenfärbung nach Best 861
– – Bielschowsky . . 866
– – Deineka 864
– – Goetzsch 863
– – Korff 865
– – Pommer 866
– – Schmorl 862
Knochen, Fibrillen . 866
–, Grenzscheiden . . 862
–, Höhlen 862
–, Kalknachweis . . 859
–, Körperchen . 862, 864
–, Schliffe . . . 887ff.
–, Sharpeysche Fasern 878
Knochenmark . . . 1113
Knorpel 822
Knorpelfärbung . . 826f.
– nach Lundvall . . 840
– – P. Mayer . . . 842
Knorpelskelett (Totalpräparat) 840
Knorpelzellen, verzweigte 852
Kochsalzlösung, physiol. 48
Kochsalz-Methylenblau 1043
Kochsalz-Neutralrot . 456
Kochsalz-Salzsäure . 855
Kochsalz-Sublimat 179, 1371
v. Kochsche Methode 884
Kockels Fibrinfärbg. 748
Kohlensäure (Gefriermikrotom) 262
Kollagene Fasern . . 758
– –, **Färbung** nach Achúcarro 808
– –, – – Beneke . . 802
– –, – – Bielschowsky 802
– –, – – Frederikse . 812
– –, – – van Gieson 415, 795
– –, – – Hansen . . 796
– –, – – Herxheimer 782, 1319
– –, – – Heidenhain (Pikroblauschwarz) 789
– –, – – – (Azokarmin-Mallory) . . . 785
– –, – – Hueter . . 798
– –, – – Klarfeld . . 810
– –, – – Krause . . 811

§§

Kollagene Fasern, Farbung nach Thielemann 532, 1320
– –, – – Krugenberg-
– –, – – Mallory . . 782
– –, – – Pasini . . . 786
– –, – – Ranke . . 809
– –, – – Ribbert . . 799
– –, – – Traina . . . 794
– –, – – Unna . . . 674
– –, – – Verocay . . 800
– –, Verhalten gegen Reagenzien. . . . 761
– –, – – Verdauung . 771
– –, Verhütung der Quellung 846, 857, 101
Kollargol. 1196
Kollodinieren der Schnitte . . 284, 1443
Kollodium-Paraffindurchtränkung . . 918
Kolloidales Gold . . 993
Kolloidsubstanz . .1262
Kolophonium z. Einschluß (Nißlpräp.) 946
Kolossows Osmiumsäure-Tannin-Methode . . . 671, 672
Kolsters Plastosomenfixierung 538
Kompensationsokular 11
Kondensor 13
Kongorot . . 1128, 1303
Konservierung in natürlichen Farben n. Jores 497
– nach Kaiserling . . 496
– der Osmiumschwärzung. 155
– von Schnittpräparaten s. Einschlußmittel.
Kontrahierter Muskel 914
Kopsch Plastosomen-Fixierung 538
– Netzapparat . . . 562
Korium . . . 767, 1315
Korrektion d. Überfärbung 346
Korrektionsfassung . 12
Korrosionspräparate nach Altmann . .1092
– – O. Schultze. . .1093
Krappfärbung . 460, 880
Kreibichs Färbung d. Nervenendigungen 1048
Kresofuchsin s. Resorcinfuchsin.
Kresylechtviolett . .1300
Kresylviolett 406
Kreuztisch 8
Kreuze Ranviers . .1031
Kristallviolett . . . 550
Krönigscher Lack . . 482

§§
Kromayers Epithelfibrillenfärbung . .1308
Kroneckersche Flüssigkeit 52
Krugenberg und Thielemanns Färbemethoden . . 532, 1320
Kühnesche Goldmethode 1051
– Netze. 1033
– Trypsinverdauung. 772
Künstliche Befruchtung . 1417, 1423, 1432
Künstlicher Nährboden 82
Kulls Plastosomenfärbung 556
Kultschitzkys Markscheidenfärbung. . 999
Kupfernachweis . . 654
Kupferazetat-Hämatoxylin 553
Kupferazetat-Kupferchlorid-Eisessig . . 513
Kupferbichromat . . 129
Kupferchromalaun-Essigsäurebeize (Weigert) 994
Kupfersulfat (Entwässern) 204
Kupffersche Sternzellen 1193
Kurare 43, 753

L.

Labyrinth 1387
Lack zur Umrandung 483
Lähmung der Gefäßmuskulatur . . .1079
Lävulose (Einschluß) 476
Lagebestimmung des Hühnerembryos .1462
Laichzeit (Amphibien) 1430
– (Fische) 1422
– (Neunaugen) . . .1420
Langerhanssche Inseln 1173
Lantermannsche Segmente 1028
Latenter Lebenszustand 68
Lebendes Präparat 63ff.
Leber . . . .1175—1197
–, Bindegewebe . . .1191
–, Gallenkapillaren 1181—1190
–, Granula 1178
–, Glykogen 1179
–, Nerven 1197
–, Sternzellen . . .1193
Lebergangszellen (Schnecke) 655
Lebersche Berlinerblaumethode . . .1356
Leberzelle 1177
Leidenfrostsches Phänomen 698
Lepkowskys Methode 876
Lenhoffs Ganglienzellfärbung 953
Lenhosséks Darstellung d. Neurofibrillen 988
– Fibrillenmethode .1347
Leukocyten . . . 685ff.
Leukocytenbewegung 685ff.
Leukocytengranula . 725
–, acidophile 725
–, basophile . . 726, 727
–, neutrophile . . . 729
–, Oxydasereaktion . 741
– in Schnittpräparaten 739
–, vitale Färbung . . 456
Leukophoren 624
Levis Fixierungsflüssigkeit 1232
Leydigsche Zellen . .1276
Lichtfilter 23, 24
Lichtgrün 360
Lichtgrün-Karmin. . 521
Lichtgrün-Safranin . 523
Liesegangs Modifikation der Cajal-Methode 989
Ligroin 206
Ligroin-Paraffinmethode von Pranther 215
Linin 527
Linse 1366
Linsenfasern 1367
Lipochrome . . 617, 620
Lipofuscin . . . 616, 619
Lipoide . . . . . 588ff.
–, Darstellung nach Ciaccio 528
–, Nachweis nach Kawamura 593
–, – – Lorrain Smith-Dietrich 592
– – – nach H. Müller 1010
Lipophoren . 624, 638ff.
Liquor ferr. sesquichlor. 364
Lithium-carbonic-ferricyankalilösung (zum Differenzieren) 999
Lithiumhämatoxylin (Weigert) . . 996, 998
Lithiumsulfat (nach Entkalken) . 846, 857
– (nach Fixieren gegen Quellung) 101
Lockesche Lösung . 50
Lösung des Eiweißes 1320a
– – Fettes 566
– – Glykogens . . . 594
Lösung der Lipoide . 591
– osmierter Substanzen . . . . . 568f.
Löwit-Fischersche Goldmethode . . .1050
Lugolsche Lösung (Jodjodkalilösung) 407
Lunge . . . .1204—1211
–, respirat. Epithel .1206
–, elastische Fasern .1208
Lupen 2
Lutein 620
Lymphdrüsen 1095—1105
Lymphe als Kulturmedium 69
Lymphgefäße . 1070, 1094
–, Darstellung durch Fettimprägnation .1092
–, – – Injektion . .1094
Lymphknoten . 1095ff.
Lymphocyten, Azurgranula 723
–, Protoplasmafärbung 732
–, Plastosomen (Schriddesche Granula) 731

M.

Macerationsmittel s. Isolationsmittel.
Maceration von Spermien 1248
Mac Gills Modifikation der Mallory-Färbg. 782
Magen . . . .1122—1129
Magendrüsenzellen 1123ff.
Magentarot 405
– (Ganglienzellen) . 961
Magentarot-Hämalaun-Lichtgrün. .1169
Magentarot-Pikroindigokarmin 425
Mallorys Bindegewebsfärbung 781
– neue Vorschrift . . 783
– Modifikation von Heidenhain . . . 785
– Hämatoxylin . . . 366
– Modifikation von Hueter. 798
– – Modifikation von Ribbert 799
– – Modifikation von Szüts . . 367, 1022
– Neurogliafärbung 1020, 1024
Manganoxydbeseitigung mit Oxalsäure 548
Manns Methylblau-Eosinfärbung 1025
Marchis Markscheidenfärbung 1011
– Methode zur sekundären Osmierung . 570

§§
Mareschs Bindegewebsfärbung . . . . 802ff.
Marginale Glia . . .1023
Markhaltige Nervenfasern . . . . 1028ff.
Marklose Nervenfasern 1032ff.
Markscheidenfärbung 994ff.
- nach Fraenkel . .1007
- - Kultschitzky . . 999
- - Marchi 1011
- - H. Müller . . .1010
- - Pal 1001
- - O. Schultze . .1005
- - W. H. Schultze .1009
- - Spielmeyer . . .1008
- - Streeter 1003
- - Vastarini Cresi .1004
- - Weigert 994
- - Wolters 1002
Maskenlack. 483
Mastisol 44
Mastzellengranula . . 744
Maus (Fortpflanzung) 1475
Maximows Azur-Eosinfärbung 442
- Fixierungsgemisch 186, 736
May-Grünwaldsche Färbung 714
-, Modifikation von Aßmann 716
May-Giemsa nach Pappenheim für Ausstriche . . . 720ff.
- - - - Schnitte . . 466
- Panchrom n. Pappenheim f. Ausstriche 721
- - - - - Schnitte . 447
P. Mayers Aufklebemethode 277
- Einbettungsverfahren 230, 231
- Farbuntersuchung 317
- Ganglienzellfärbung 951
- Hämalaun . . 344, 349
- Karmalaun 333
- Muchämatein . .1140
- Mucikarmin . . .1139
- Parakarmin . . . 334
- Pigmentbleichung . 631
- Tetrander 257
Mays Heber 662
Medium (Gewebekultur). . . . . 69ff.
Meerschweinchen (Fortpflanzung) .1476
Mehrfachfärbung . 408ff.
Meißnersche Körperchen 1335
Meißnerscher Plexus 1150
Melanin . . 616, 619, 626
-, Nachweis durch Dopa-Reaktion 609, 629
§§
Melanophoren 624, 626ff.
Membrana propria d. Nierenkanälchen .1219
Mertons Goldmethode 1060
Merckelsche Flüssigkeit 172
Mesenterium 664
Messen des Präparates (Mikrometer) . . 28ff.
Messer f. Mikrotome 253f.
-, Schleifen ders. . . 256
Messerhalter 250
Messerneigung . . . 253
Messerschlitten . . 249f.
Messerstellung . 253, 254
Meßokular 29
Metachromasie . . . 388
Methylalkohol (Fixierung v. Blutpräpar.) 696
Methämoglobin . . . 751
Methylbenzoat . 199, 309
Methylblau-Eosin n. Mann 1025
Methylenazur 710
Methylenazurfärbung, Allgemeines . . . 406
Methylenblau Blutpräp. 728
- Eosin 433
- Erythrosin 952
- Fixierung . 1044ff., 382
- Ganglienzellfärbung 945ff.
- Kernfärbung . . . 406
- Knorpelfärbung . . 826
- Nervenfärbung . .1043
- Vitalfärbung 453, 454, 1043
- polychrom s. d. 732, 744
- Seifenlösung (Nißl) 945ff.
Methylgrün. 402
- bei Blutzählung . 756
- für Gewebsschnitte (Kern) . . . 402, 524
Methylgrün-Essigsäure 513
Methylgrün-Fuchsin S-Orange 436
Methylgrün-Orange (Pappenheim). . . 724
Methylgrün-Orange-Giemsa nach Pappenheim-Kardos . 724
Methylgrün-Pyronin nach Pappenheim-Unna . . . . . 433ff.
- - für Plasmazellen 745
Methylgrün-Pyronin (Darmschleimhaut) 1149
- - (Langerhanssche Zellinseln) 1173
Methylgrün-Pyronin-Orange . . . 433, 435
Methylviolett B . .1016
- 5 B 1016
§§
Methylviolett für Blutzählung 756
- - Epithelfaserfärbung 1308
- (Vitalfärbung von Plastosomen) . . . 533
- (Neurogliafärbung) 1012ff.
Metol-Hydrochinon .1018
Metzners Färbemethode 400
- Fixierungsmethode für Schleimgranula 1158f.
Meves Plastosomenmethode 536
Michaelis Mitochondrienfärbung mit Janusgrün . . 533, 463
Michaliows Darstellung des intrakardialen Nervensystems 1066
Mikrometer. . . . 28, 79
Mikrometerschraube (Mikroskop) . . . 5
- (Mikrotom) . . 249, 252
Mikrophotographie . 32
Mikroskop . . . . . 1ff.
Mikroskoplerlampe 23, 18
Mikrotom . . .247—265
-, Anleitung zum Gebrauch 258
-, Gefriermikrotom . 262
-, Modell H von Jung 258
-, Tetrander von P. Mayer 257
Mikrotommesser . 253f.
Milz . . . . .1105—1113
-, Injektion 1106
-, Kapillaren 1107
-, Reticulum . . 1105ff.
Mislawskys Plastosomenmethode . .1172
Mitochondrien s. Plastosomen.
Mitosen . . . . . 515ff.
Modellieren 500
Modiolus 1387
Molybdänsaures Ammonium 382
- - zur Fixierung v. Neurofibrillenfärbung . . . 977, 1044
- - zur Neurofibrillenfärbung n. Bethe 1023
Molybdänsäure-Hämatoxylin nach Held 1023
- - nach Szütz . . 377
Molybdänhämatoxylin-Säurefuchsin-Pikrinsäure 1416
Monokulare Fernrohrlupe 3
Muchämatein 1140
Mucikarmin 1139

§§
Mucikarmin-Bleu de Lyon 827
Mucin (Eigenschaften) 1142, 1136
Müllersche Fasern. .1380
– Flüssigkeit, Herstellung 130
– –, Anwendung zur Entkalkung . 854, 860
– –, – – Fixierung 130, 1343
Müllersche Flüssigkeit zur Mazeration (Epithelien) 658
– – für Nervensystem 934
Müller-Formolgemisch nach Orth 132
Müller-Osmiumgemisch nach Marchi . . .1011
Müller-Sublimatgemisch nach Held 101
– – – Helly 185
– – – Maximow 186, 736
– – – Zenker . . . 184
H. Müllers Markscheidenfärbung 1010
Mundhöhlenschleimhaut 1114
Muschenkoffs Goldmethode 1055
Muskel. . . . .897—933
–, glatt . . . .925—933
–, Herzmuskulatur 921–924
–, Skelettmuskulatur 897—920
Muskelextrakt . . . 79
Muskelfibrillendarstellung 908, 910ff., 918ff.
Muskel und Sehne . 918
Muzin s. Mucin
Myelinscheide. . . .1030
Myelintropfen 1028, 1029
Myelocyten . . 741, 742
Myokard . . . . 1062ff.

N.

Nabelstrang 765
Nabias Goldmethode 1058
Nachfixierung von Formolpräparaten 144
Nachvergoldung . . 981
Nährboden (künstlich) 82
α-Naphthol-Oxydase-Reaktion nach Giercke 741
– – – – – Gräff . . 606
– – – – – Loele . . 741
– – – – – Schmorl . 608
– – – – für Markscheidendarstellung . 1009
– – – – nach W. H. Schultze 607, 605, 741
Nagel, Untersuchung des – 1312
Naphtholgelb . . . 449
Naphtholschwarz . . 792, 812
Naphthylaminbraun . 972
Narkose 40
Nasenschleimhaut, Untersuchung der – 1398—1402
Natrium (zum Entwässern von Äther) 233
Natriumchlorid s. Kochsalz
–, Nachweis (Niere) .1223
Natriumhypochlorit 1333, 1439
Natriumperborat . . 634
Natriumsulfat = Natrium sulfuricum = Glaubersalz (für Fixierung) . . . 130, 184
– nach Entkalkung . 857
Natriumsulfid (Osmiumschwärzung) . 155
Natriumsulfit-Natrium sulfuros. 1012
Natriumsulfit-Chromogen-Ameisensäure (Weigert) 1012
Natriumsulfit-Oxalsäure (Pal) 548, 1001
Natrium sulfuric. = Natriumsulfat s. d. .
– sulfurosum = Natriumsulfit s. d.
Natriumthiosulfat (Fixiernatron) nach Jod176
– nach Metallimprägnierung . . . . 802ff.
Natronfluorid . 661, 929
Natronlauge zur Mazeration . . 1069, 1321
Natürliche Färbung . 495
Nebenniere .1283—1290
–, Chromreaktion 1284ff.
Nelkenöl 199, 309
– zur Celloidinentfernung beim Aufkleben) 288
– (Ersatz durch Methylbenzoat) . . . 309
– (Sichtbarmachen verblaßter Injektionen) 1086, 1185
Nelkenöl-Celloidin zum Aufblocken 245
Nerv. (peripher) frisches Präparat . .1028
– marklos 1032
– markhaltig 1028
Nervenendigung, Allgemeines 1041
– in der Cornea 1358ff., 1360
– – – Cutis . . 1334 ff.
Nervenendigung im Entenschnabel . . 1043, 1336
– in der Epidermis 1339
– im Geruchsorgan .1402
– in den Geschmacksknospen 1117
– im Herzen 1066
– in der Leber . . .1197
– im Muskel 1057
– in der Sehne . . .1056
Nervenendigungen, Darstellung durch Färbung . . 1043ff., 1061
–, – – Methylenblau 1043
–, – – Rongalitweiß .1048
–, – – Silberimprägnation. . . 1037ff.
–, – – Vergoldung 1049ff.
–, – nach Bethe . .1046
–, – – Boehm . . .1337
–, – – Carrière . . .1337
–, – – Dogiel . . .1379
–, – – Ehrlich . . .1043
–, – – Gad 1061
–, – – Goldscheider .1340
–, – – Golgi 1054
–, – – Kreibich . . .1048
–, – – Kühne . . .1051
–, – – Loewit. . . .1050
–, – – Merten . . .1060
–, – – Muschenkoff .1055
–, – – Nabias. . . .1059
–, – – Ranvier . . .1052
–, – – Sihler 1061
–, – – Stöhr 1058
Nervenfaser, Darstellung der Lantermannschen Segmente 1028
–, – – Markscheide .1030
–, – des Myelins . .1030
–, – der Neurofibrillen . . . . 1036ff.
–, – des Neurokeratins 1033
–, – der Ranvierschen Einschnürung. . .1030
–, – – – Kreuze . .1031
Nervenzelle s. Ganglienzelle
Nervensystem
–, Achsenzylinder 1035ff.
–, Allgemeines . 934ff.
–, Binnenapparat . 959ff.
–, Ganglienzellen . 962ff.
–, Isolierungsmethoden . . . .936—943
–, Kern und Tigroidsubstanz . . .944—954
–, markhaltige Fasern (Markscheidendarstellung) . . . . . 994ff.

§§
Nervensystem, Nervenendigungen 1041—1061
–, Neurofibrillen (Gehirn) . . . . . 977ff.
–, Neurofibrillen im periph. Nerv .1036ff.
–, Neuroglia . . 1012ff.
–, Neurosomen und Plastosomen .955—958
–, – periph. Nerv. 1028—1061
–, – zentraler Nerv. 936—1027
Netzapparat 557
Netzhaut. 1370
Netzknoten (Kern) . 512
Netzknorpel . . 824, 833
Netzkörbchen. . . . 108
Neubauersche Zählkammer 756
Neukirchs Glykogenfixierung 600
Neunaugen, Fixierung der Eier 1419
Neunaugenfundstätten 1420
Neumayers Färbegestell 298
– Wachsplattenwalzapparat 507
Neurofibrillen, Darstellung durch Ammoniummolybdat-Toluidinblau (Zentralnervensystem) 977
–, – – – – (peripheres Nervensystem) 1036
–, – – Argentamin . 990
–, – – Goldmethode 979
–, – – kolloidales Gold 993
–, – – Pyridin-Silbermethode 984
–, – – Silbermethode 983ff., 1037
–, – – Silbernitrat-Hydrochinon . . . 992
Neurofibrillen, Darstellung nach Apathy 979
–, – – Agduhr . . . 986
–, – – Bethe 977
–, – – Bethe-Mönckeberg 1036
–, – – Bielschowsky 983ff.
–, – – Boecke . . .1039
–, – – Cajal 988
–, – – Cowdry . . . 991
–, – – Donaggio . . 978
–, – – Gros 987
–, – – Joris 993
–, – – Kato 990
–, – – Liesegang . . 989
–, – – Sand 1040
–, – – Schultze O. . 992

§§
Neuroglia, Darstellung mit Mallorys chem Hämatoxylin 1020
–, – – Methylblau-Eosin 1025
–, – – Methylviolett 1012ff.
–, – – Molybdänhämatoxylin 1023
–, – – Sulfalizarins. Natron-Toluidinblau 1019
–, – – Verdauung . .1026
–, – – Viktoriablau .1018
–, – nach Alzheimer 1025
–, – – Bartel 1017
–, – – Benda 1019
–, – – Fieandt . . .1024
–, – – Held 1023
–, – – Mallory . . .1020
–, – – Poetter . . .1018
–, – – Pollak 1021
–, – – Spielmeyer .1016
–, – – Szüts 1022
–, – – Weigert . . .1012
Neuroglia, Einfluß von Verdauung 1027
Neurogliabeize . . 5, 994
Neurokeratin 1033
Neurosomen . . . 956f.
Neutrale Teerfarben . 386
Neutralfette, Nachweis . . . . . 566ff.
Neutralisieren des Formols 558, 139
– – Kanadabalsams 487
Neutralrot, Färbung der Subcutis . . .1318
–, Vitalfärbung . . 455ff.
Neutralrot-Pikrinsäure für Knochenfärbung 863
Neutralviolett extra . 615
Neutrophile Granulationen . . . . . 714ff.
Neutrophilie 386
Nicolles Karbolthionin 862
Niederschlag nach Formolfixierung, Entfernung 147
– – Sublimatfixierung, Entfernung . 175
Niere, frisches Präparat 1214, 1223
–, Isolationspräparat mit Kalilauge . .1215
–, – – Salzsäure . .1213
–, – – Salpetersäure .1214
–, Darstellung der Salze 1223
–, – – Epithelien . 1212, 1216, 1220
–, – – Zellgrenzen .1218
–, Bindegewebe . . .1221

§§
Niere, Bürstenbesatz 1212
–, Fixierung 1217
–, Leichenerscheinungen 1212
–, Membrana propria 1219
–, Vitalfärbung . . .1222
Nigrosin 790
Nilblausulfat, Fettfärbung 581
Nißls Äquivalentbild 946
– Seifenmethylenblaulösung 945
– Substanz 954
Nochts Azur-Eosinfärbung 442
Noduli lymphatici .1148
Nuclease 514, 954
Nucleinspiralen . . . 932
Nucleolenfärbung nach Obst. 521
Nucische Methode .1351

O.

Objekthalter 251
Objektiv 10
Objektivmikrometer . 28
Objektivrevolver . . 10
Objektivschlitten . . 10
Objektschlitten . . . 251
Objektträger . . . 35ff.
–, Entfetten für Blutpräparate . . 677, 777
– aus Quarz 16
–, Reinigen 37
–, Signieren 268
Obsts Nucleolenfärbung 521
Öle, ätherische . . . 199
Ölcelloidin, Aufkleben der Schnitte . . . 289
–, Einbetten in – . 239ff.
–, Schneiden 261
–, Weiterbehandeln unaufgeklebter Schnitte 308
Ölen des Mikrotoms 239ff.
Ölgemisch nach Apathy 236
Ölimmersion 14
Ölstein 56
Ösophagus 1119
Ohr . . . . .1386—1397
–, Untersuchung des Labyrinths 1387
–, Entkalken . . 1389ff.
–, Zerlegen nach Panse 1388
–, Behandlung nach Kolmer 1389
–, Behandlung nach Wittmaak 1391
Okular 10
Okularmikrometer 28, 29

§§
Oleinhaltige Substanzen . . . . . 567 ff.
Olivenölinjektion . . .1092
Omentum 764
Onychin 1314
Oppels Färbemethode mit Karmin-Pikroindigokarmin-Säurefuchsin 428
Orange G . . . 360, 414
Orange G-Anilinblau-Säurefuchsin . . . 781
Orange G-Anilinblau-Azokarmin 785
Orange -G-Eisenhämatoxylin 360
Orange G-Eosin-Toluidinblau 440
Orange G-Jodeosin-Toluidinblau . . . 441
Orange G-Hämalaun 414
Orange G-Methylgrün 724
Orange G-Methylgrün-Pyronin . . . 433, 435
Orange G-Methylgrün-Säurefuchsin . . 436 f.
Orange G-Rubin S . 865
Orange G-Säurefuchsin-Methylgrün . 436 f.
Orbitaldrüsen . . .1385
Orcein nach Unna Taenzer 818
– – Benda 820
– – Pranther . . . 819
Orcein-Hämatoxylin-Säurefuchsin-Pikrinsäure (Delamare) . 420
Orcein-Wasserblau nach Unna . . . 786 ff.
Orcein-Wasserblau-Eosin-Hydrochinon 674
Orientieren . . . 228 ff.
Orientierungsapparat 251
Origanumöl 199
– zum Ölgemisch nach Apathy 236
Orths Fixierungsgemisch 132
– Lithionkarmin . . 339
Osmiumsäure . . 148 ff.
–, Binnenapparat nach Kopsch 562
–, Bleichen . . . 548, 564
– für Blutplättchenkonservierung . . 689
– zum Cholesterinnachweis 587
–, Einbettung osmierter Präparate. . 568 f.
–, Entfernung aus Schnitten 548
–, Fettnachweis 567 ff., 570
–, Lösung beim Durchtränken . . . . 568 f.

§§
Osmiumsäure, Unlöslichmachen durch Natriumsulfid . . . 155
– zum Unlöslichmachen von Gelatine 1087
– **zur Färbung** von Zellstrukturen nach O. Schultze . 371, 372
– – – – Markscheiden nach O. Schultze 1005
– – – – Tannin nach Woronin 673
– – **Fixierung** . . 148 ff.
– – – von Gewebekulturen 88
– – – – Spermien .1250
– – – für Zellen (Fixierung durch Dämpfe) 152
– – Isolierung . . .1129
Osmiumsäure-Formol-Jod-Eisessig . . . 702
Osmiumsäuregemische
– nach Altmann . . 537
– – Bensley (Cowdry) 544
– – Cajal 967
– – Champy 540
– – Dubreuil . . . 541
– – Flemming, schwach 126
– – –, stark . . . 125
– – Gelei 603
– – Golgi 966
– – Hermann . . . 158
– – Levi 1232
– – Marchi . . . 1011
– – Maximow . 186, 736
– – Metzner 1159, 1160
– – Meves 536
– – Werzberg . . . 702
– – Wittmaak . . .1391
– – Zieglwallner . . 604
Osmiumsäure zur Injektion 1091
– – Isolierung . 659, 1129
Osmiumsäure-Kaliumbichromat . 537, 1159
Osmiumsäure-Kaliumbichromat-Salpetersäure 1160
– für Markscheidendarstellung nach O. Schultze 1005
Osmiumsäure-Pikrin-Essigsäure 167
Osmiumsäure-Pikrin-Essigsäure-Platinchlorid 168
Osmiumsäure-Trichlormilchsäure . . . 604
Ossifikation . . . 867 ff.
Osteoblasten 865

§§
Ovarien . . .1226—1236
–, interstitielle Drüse 1282
Oxalsäure bei Bleichung osmierter Präparate 548
– beim Bleichen von Pigmenten 633
–, Entfernung von Eisen 583
Oxalsäure-Methylviolett (für Neuroglia) 1012
Oxalsaures Natrium . 73
Oxychromatin . . . 897
Oxychromiolen . . . 512
Oxydasereaktion nach Gräff 606
– – Schultze 607
– – Winkler 605
– an Blutausstrichen 607, 741
– – Gewebsschnitten 605 ff.
–, Einfluß der Fixierung und Art der Farblösung . . . 741

P.

Paarungszeit (Amphibien) 1430
Pacinische Körperchen 1338
Palsche Bleichmethode . . 548, 1001
– Markscheidenfärbung 1001
Palladiumchlorür bei Injektionspräparaten 1086
Panchromfärbung nach Pappenheim für Ausstriche 721
– – – – Schnittpräparate 447
Panchromgemisch nach Pappenheim . . . 448
Panethsche Zellen. .1143
Pankreas . . . 1167 ff.
Pankreatinum siccum 773
Panoptische Färbung (May-Giemsa) nach Pappenheim für Ausstriche 720
– – für Schnittpräparate 446
Panses Methode für das Gehörorgan. .1388
Papillen der Zunge .1115
Pappenheims Methylgrün-Pyroninfärbung 434, 745
– Panchromfärbung 447, 448, 721
– panoptische Färbung (May-Giemsa) 446, 720

§§
Pappenheims Methylgrün-Orangemischung 724
– Methylgrün-Pyronin-Orange 435
– Kardoslösung . . . 722
– Triacid 730
– Pipette für Blutkörperchenzählung . . 756
Paraboloidkondensor 17
Paraffin . . 197, 200, 218
–, Befreiung . . . 296ff.
–, Celloidin-Einbettung 238
–, Entfernung aus dem Schnitt 296
–, Schneiden . . . 259
–, Überhitztes – nach Spee 220
Paraffindurchtränkung . . . .200—215
– nach Meves (für Ascariseier) 1413
– – Pranther 215
– – Poso 214
– – Schultze 215
Paraffingemisch nach Altmann 219
– – Kabsch 219
– – v. Walsem . . . 219
Paraffineinbettung . 226
–, Born-Petersche Richtplatte . . . 502
– in Gelatinekapseln nach P. Mayer . . 231
–, Orientierung kleiner Objekte 230
–, – für Rekonstruktionen 502
Paraffinöl 199
– für Einschluß von Präparaten . . . 493
– – Luftabschluß von Farblösungen . . 368
Paraffinlösende Flüssigkeiten 206
Paraffinsorten . 218, 219
–, überhitztes – . . 220
Paraffin-Ligroin-Einbettung 215
Paraffin mit Wachszusatz 219
Paraffinum liquidum s. Paraffinöl
Paraganglien, Untersuchung . . . 1283ff.
Parakarmin 334
Parakarmin-Pikroindigokarmin 427
Parallelfaseriges Bindegewebe 758
Paraplasma (Blutzellen) 732
Paraphenylendiamin (Schultze-Winkler)605 ff.
§§
Paraphenylendiamin für Markscheidenfärbung 1009
Parathyreoidea . . .1272
Parotis . . . . 1151ff.
Pasinis Färbung . . 786
Pepsin-Salzsäure, Vorverdauung 1320
Perborat 634
Perenyische Flüssigkeit 190
Perikard 1065
Periphere Nerven 1028—1060
Perls Berlinerblaureaktion 647
Peters Dotterfärbung 1444
Petrischale (für Blutfärbung 707
– (bei Gewebekulturen) 71
Pflasterepithelien . . 655
Petrunkewitsch's Fixierungsgemisch . 188
Petroläther (Ligroin) 199, 206, 215
Phaeochrome Zellen (Chromaffine Z.) .1283
Phloroglucin-Salzsäure (Entkalkung) . . . 858
Phloxin . . . 532, 1320
Phenolphthalein . . . 709
Phormien 1352
Phosphate (Nachweis in der Niere) . .1223
Phosphormolybdänsäure bei Malloryfärbung 781
– – Ribberts Bindegewebsfärbung . . 799
Phosphormolybdänsaures Hämatoxylin 366, 1023
Phosphorsäurenachweis 654
Phosphorwolframsäure (Fixierung) . 161
– bei Pasinis Methode 786
Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin 366
– für Bindegewebsfärbung (Hueter) . . 799
– – Fibrinfärbung (Schueninoff) . . . 749
– – Neurogliafärbung 1020, 1024
Phosphorwolframsäure-Thionin (Knochenfärbung) . . . 862
Physiologische Kochsalzlösung 48
– Selbstinjektion 1183 f.
Pigment . . . .616—642
–, Abnutzungspigment 616, 619
§§
Pigment, Allophoren 635 ff.
–, Bleichung . .630—634
–, Blutpigmente 616, 619, 751, 752
–, Färbung 618 (Tabelle)
–, Eisengehalt . 617, 618
–, Erythrophoren . . 624
–, fetthaltig . . 617, 618
–, Fixierung 626, 628, 636, 640, 642
–, Fundstellen . . . 619
–, Guanin 641
–, Guanophoren 641, 636
–, Interferenzzellen . 624
–, Iridocyten 624
–, Leukophoren . . . 624
–, Lipochrome . 620, 617
–, Lipofuchsin . . . 619
–, Lipophoren 624, 638ff.
–, Lutein 620
–, Melanin . 616, 619, 626
–, –, Vorstufe dess. . 629
–, Nachweis durch Dopareaktion 609, 629
–, Melanophoren . 624, 626 ff.
–, Xantophoren . . . 624
Pikrinsäure 162
– zur Differenzierung 421
–, Einfluß auf Schmelzprismen 872
– zur Entkalkung. . 852
– – – von Zähnen . 872
– – Färbung 421
– – Fixierung 162ff. s.u.
Pikrinsäuregemische zur Färbung
–, Pikrinsäurealkohol nach Metzner. . . 555
–, Pikrinsaures Ammoniak 419
–, Pikrinsäure-Bleu de Lyon 431
–, Pikroblauschwarz . 789
–, Pikrofuchsin nach Apathy (Ammoniumpikrat) 419
–, – – Benda 417
–, – – van Gieson . 415
–, – – Hansen . . . 796
–, – – Schaffer . . . 797
–, – – Weigert . . . 363
–, Pikroindigokarmin 427
–, Pikroindigokarmin-Magenta 426
–, Pikrokarmin . . . 422
–, Pikronigrosin . . 790
Pikrinsäuregemische zur Fixierung
–, Pikrinsäure-Ammoniumbichromat . .1021
–, Pikrinessigsäure. . 162
–, Pikrinsäure-Formol-Eisessig 163

§§

Pikrinsäuregemische, ikrin-Osmium-Essigsäure 167
–, Pikrin-Osmium-Platinchlorid-Essigsäure 168
–, Pikrin-Salpetersäure 165
–, Pikrin-Salpetersäure zum Entkalken 852
–, Pikrin-Schwefelsäure 162
–, Pikrin-Sublimat . 166
–, Pikrin-Sublimat-Osmiumsäure . . 169
Pilokarpin 1153
Pinsel zum Aufkleben 281
Pinselmethode . . .1099
Planspiegel 5
Plasma als Medium 69, 72 ff.
Plasmazellen:
–, Färbung mit Methylgrün-Pyronin . 745
–, – – Polychromen-Methylenblau . . . 744
Plastische Rekonstruktion 501
Plastosomen
–, Bleichen 548
–, Einwirkung von Hitze und Kälte . 547
–, **Färbung nach** Altmann 554
–, – – Benda 550
–, – – Cowdry . . . 553
–, – – Frederiksen . . 812
–, – – Heidenhain . . 551
–, – – Kull 555
–, – – Meves . . . 551
–, – – Michaelis . . . 463
–, – – Regaud 552, 1256
–, – **mit** Eisenhämatoxylin . . . 551, 552
–, – – Erythrosin-Methylenblau 958
–, – – Kupferacetat-Hämatoxylin-Kaliumchromat . . . 553
–, – – Kristallviolett 550
–, – – Säurefuchsin-Lichtgrün 957
–, – – Säurefuchsin-Pikrinsäure . . . 555
–, – – Säurefuchsin-Toluidinblau . . . 554
–, – – Säurefuchsin-Toluidinblau-Aurantia 556
–, – – Säurefuchsin-Pikrinsäure-Naphtholschwarz . . 812
–, **Fixierung nach** Altmann 537

§§

Plastosomen, Fixierung nach Bang-Sjövall 546
–, – – Benda 535
–, – – Bensley-Cowdry 544
–, – – Champy . . . 540
–, – – Dubreuil . . 541
–, – – Kiyono . . . 543
–, – – Kolster . . . 542
–, – – Kopsch . . . 538
–, – – Levi 1232
–, – – Meves . . . 536
–, – – Mislawsky . .1172
–, – – Regaud 539, 1256
–, – – Schultze O. . 545
Plastosomen, Lebendbeobachtung . . . 533
–, Vitalfärbung . 533, 463
Platinchlorid (Rabl) . 170
–, Chromsäure . . . 172
–, Osmiumsäure-Eisessig 158
–, Sublimat. 171
Plattenmodelliermethode . . . . 501 ff.
Plumbum formicium 973
Polarisationsmikroskop 19, 20
Polstrahlen 528
Polychromes Farbgemisch nach Salkind 449
– Methylenblau für
– – – Ganglienzellen 953
– – – Hypophyris .1265
– – – Markscheiden .1007
– – – Mastzellen . . 744
– – – Plasmazellen . 744
– – – Thyreoidea . .1262
– Methylenblau-Karbolfuchsin 732
– Methylenblau-Methylgrün-Pyronin . 953
– Methylenblau-Tannin 1262
Pommers Darstellung von kalkhaltigem und kalkfreiem Knochen 860
Porzellansiebe (zum Wässern) 108
Pottasche = Kaliumkarbonat 487, 716
Pranthers Einbettungsmethode 215
– Elastinfärbung . . 819
Prichardsche Lösung 1337
Progressive Färbung . 320
Projektive Rekonstruktion 500
Protoplasmafärbung
– bei Blutzellen . . 732
– – Oxydase bzw. Dopa-Reaktion . . 609
–, Reduktionsorte . . 613

§§

Protoplasmastrukturen . . . . . 527 ff.
Protozoen, Chromatinfärbung 717
Prüfung des dest. Wassers für Giemsafärbung 710
Purinkörper 1223
Purkinjesche Fäden 923 f., 1063
Purpurinfärbung . . 651
Pyridin-Silbermethode 806
Pyrogallussäure bei Kalkreaktion . . . 859
– – Golgiapparat . . 960
– – Neurofibrillen . . 991
Pyrogallussäurereaktion bei Speichelröhren 1165
Pyronin 433
Pyronin-Methylgrün 433
– – für Blutpräparate
– – – Darmschleimhaut 1149
– – nach Dopa-Reaktion 609
– – für Gewebsschnitte 433
– – – Langerhanssche Zellinseln . .1173
– – – Plasma- und Mastzellen . . . 745
Pyronin-Tannin-Weinsteinsäure (Ganglienzellen) 951
Pyrrholblau 465

Q.

Quarzgläser 87
Quarzquecksilberlampe 25
Quecksilberchlorid s. Sublimat
Quecksilberoxydnitrat 1223
Querstellung des Mikrotommessers . . 255
Querstreifung der Muskulatur . . 907 ff.
Quinckes Eisennachweis. 647

R.

Rabls Fixierungsgemische 166, 170, 171
Radiumbestrahlung lymphoiden Gewebes 1112
Ramon y Cajals Silbermethode für Binnenapparat 960
– – – – Ganglienzellen 967
– – – – Neurofibrillen 988

§§
Ramon y Cajals Silbermethode für Retina 1381
– – – Urannitratmethode 557
Randfaden von Erythrocyten 682
– der Spermien. . .1248
Rankes Bindegewebsimprägnation . . . 809
Ranviers Drittelalkohol 658
– Goldmethode . . .1051
– Fixierung der Cornea . . . . . 1354ff.
– – des Gehörorganes 1393
– – der regio olfactoria 1401
– – – Retina . . .1371
Ranviersche Einschnürungen . . .1029
– Kreuze 1030
Rasiermesser . . . 55ff.
v. Raths Gemische . 167
Räucherung mit Formoldämpfen . . . 701
– – Osmiumsäure . 152
– nach Weidenreich . 699
– – Werzberg . . . 702
– von Augenpräparaten 1371
– – Blutpräparaten 699, 702
– – Gewebekulturen 88
– – Spermien . . .1250
Reduktionsorte nach Unna 613
Regressive Färbung . 320
Regauds Plastosomen-Fixierung . 539, 1256
Regulator s. Thermoregulator
Reifen des Ammoniakkarmins 975
– der Farblösung . . 330
– des Hämatoxylins . 342
–, Beschleunigung nach Hansen . . . 355
–, – – Unna 356
Reifungsvorgänge (Amphibienei) . . .1431
Reinheit der Farbstoffe 317
Reinigung des Acetons 740
– – gebrauchten Alkohols 107
– – Chloroforms . . 213
– – Methylgrüns . . 402
– der Deckgläser . . 37
– – Objektträger 37, 777
– – Thermoregulators 223
– – gebrauchten Toluols 302

§§
Rekonstruktionsmethoden 497
Rekordspritze . . .1074
Remaksche Fasern .1031
Reptilieneier . . .1446
Reptilienhaut . . .1329
Resorcinfuchsin . . 814
Resorcinfuchsin-Hämatoxylin-Pikrinsäure-Säurefuchsin 816
Resorcinfuchsin-Scharlach R . . . 817
Respirationsorgane 1198—1211
Respiratorisches Epithel 1206
Retikuläres Gewebe. 766
– –, Darstellung durch Auspinseln 1100
– –, – – Ausschütteln 1101
– –, – – Färbung . .1106
– –, – – Röntgenbestrahlung . . .1102
– –, – – Verdauung .1103
Retina. . . .1370—1383
– von Dunkeltier . .1373
–, Nervenfibrillen 1379ff.
Revolverblende . . . 6
Rheotaxis der Spermien 1247
Ribberts Bindegewebsfärbung 799
– Modifikation von Hueter. 798
– vitale Karminfärbung 468, 743
Richtebene 502
Richtfläche 502
Richtleisten 502
Richtlinie 502
Riechzellen 1402
Rillentrog 298
Ringersche Flüssigkeit 50
Ripart-Petitsches Gemisch 513
Rippenknorpel . . . 822
Röntgenbestrahlung lymphoid. Gewebe 1102
–, Thymus 1274
Rollets Goldmethode 905
Romanowsky-Färbung 717
Rongalitweißmethode (Unna). 612
– für Nervenfärbung (Kreibich) 1048
Rote Blutkörperchen, Ausstrich (Herstellung) 692
– –, basophile Punktierung 728
– –, frisches Präparat . . . . 679ff.

§§
Rote Blutkörperchen, Schnittpräparat 706ff.
– –, Zählung . . . 756ff.
Rubaschkins Aufklebemethode 288
Rote und weiße Muskeln 915
Rubin S 360, 405
Rubin S-Ammoniumpikrat 417, 419
Rückenmark, s. Nervensystem

S.

Säugetiereier 1474
Säurefuchsin s. Fuchsin S
Säurefuchsin-Tanninlösung nach Fraenkel 1262
Safranin nach Babes 395
– – Flemming . . . 394
– – Hermann . . .1254
– – Schuberg. . . . 396
– – Winiwarter . . . 393
– alkohol. 393
– –, Gentianaviolett 1254
– –, Gentianaviolett-Orange 528
– –, Hämatein . . . 526
– –, Indigokarmin . 424
– –, Hämatoxylin-Tannin (saure Kerne) 526
– –, Lichtgrün (Benda) 523
– –, Pikrinsäure. . . 393
– –, Pikroindigokarmin 427
– –, Toluidinblaufärbung (chromaffine Zellen) 1285
– –, Wasserblau-Orcein-Eosin (Bdg.) . 674
Salpetersäure als Entkalkungsmittel . . 857
– – –, alkoholisch . 858
– – – mit Formalin. 858
– – – mit Phloroglucin 858
– – –, wässerig . . . 857
– als Fixierungsmittel 189
– – – für Embryonen 1464
– – – für Neurofibrillen 977
– als Mazerierungsmittel 1214
Salpetersäure-Silbernitrat 1471
Salzsäure für Eisenreaktion . . . . 643ff.
– zur Entkalkung. . 855
– – – mit Chromsäure 1394
– – – – Kochsalz . . 855

§§
Salzsäure für Eisenreaktion, wässerig 856
– zur Korrektion von Hämat. Überfärbg. 346
– – – – Karminüberfärbung 337
Sands Neurofibrillenmethode 1040
Sarkolemm . . . . 899ff.
Sarkoplasma 915
Satas Fettosmierung 571
Sauerstoffzufuhr bei Färbung 1043
– – Gewebekultur . 81
Sauerstofforte der Zellen 612
Saure Kerne 526
– Teerfarben 386
Schafembryonen . .1491
Schaffers Bindegewebsfärbung 797
– Entkalkungsvorschriften . . . 848, 857
– Fixierungsvorschriften 93
– Formolalkohol . . 119
– Haar-Kutikulafärbung 1327
– Schleimdrüsenfixierung . . . 1161, 1260
– Wässerungsvorrichtung 108
Schaltstücke 1164
Scharlach R 579
Scharlach R-Aceton . 580
Schaudinns Sublimat-Alkohol 182
Scheide 1243
Schilddrüse. . . . 1262ff.
Schläfenbein-Entkalkung 1391, 1394, 1395
Schläfenbeinfixierung 1389
Schläfenbein-Orientierung 1387
Schläfenbein-Zerlegung 1388
Schlaffer Muskel . . 914
Schleifen, Knochen . 887
–, Messer 253
–, Zähne 895
Schleimdrüsen . .1151ff.
–, Färbung nach Dominici 1162
–, – – Metzner . . . 400
–, – – Schaffer . . .1260
–, Fixierung nach Metzner . . . 1158ff.
–, – – Schaffer 1161, 1260
Schleimgranula . 1137ff.
Schlemmers ammoniakalische Silberlösung 814
Schlittenmikrotom 249ff.
Schlußleistennetz . . 670
Schmeckbecher . . .1116

§§
Schmelzers und Tirmanns Eisenreaktion 644
Schmelzprismen, Lösung durch Pikrinsäure 872
Schmelzuntersuchung 873
Schmelzpunkt des Paraffins 218
Schmidts Pigmentuntersuchung . . 621
Schmorls Darstellung der Knochenhöhlen 862
– Modifikation der Oxydasefärbung . 608
– Nebennierenfärbung 1286
Schnecke (Gehörorgan) . . . . 1386ff.
Schneiden brüchiger Objekte . . 259, 1242
– bei Celloidineinbettung 260
– mit Gefriermikrotom 254
– bei Gelatineeinbettung 241
– mit Mikrotom . . 258
– bei Paraffineinbettung . . . . . 258f.
– mit Rasiermesser . 55f.
Schnelldiagnosen . . 262
Schnittdicke 252
Schnittfärbung . . 324f.
Schnittverdauung n. Björkenhein . . . 807
– – Hoehl 808
Schriddes Blutfixierg. 731
Schueninoffs Hämatoxylin 749
Schrumpfung bei Fixierung 90
Schüttelmethode . .1100
Schultze M., Jodserum 51
Schultze O., Aufhellungsmethode von Embryonen . . . 881
–, Einbettungsmethode 215, 918
–, Einschlußflüssigkeit 475
–, Korrosionsmethode 1093
–, Osmiumhämatoxylinmethode 371
–, Markscheidenimprägnierung m. Osmiumsäure 1005
–, Plastosomendarstellung 545, 371
–, Silbermethode . . 992
–, –, Modifik. v. Gros 987
–, Versilberungsmethode 668
Schultze W. H., Markscheidenfärbung (Naphthol) 1009

§§
Schultze, W. H., Oxydasereaktion . 605
Schusterkugel . . . 23
Schutzkolloid 989
Schutzleisten für Deckgläschen (Wachsfüßchen) 59
Schwangerschaftsdauer 1481
Schwannsche Scheide 1030
Schwefelammonium (Herstellung) . . . 648
– für Calciumnachweis 653
– für Eisennachweis 644ff.
– – Kaliumnachweis 650
Schwefelbleiimprägnierung 973
Schwefelcalcium . . 44
Schwefelkohlenstoff 199, 206, 210
Schwefelsaures Eisenoxydammoniak . . 359
Schwefelsäure, Cholesterinreaktion . . 587
– bei Calciumnachweis 653
– – Celloidineinbettung 235
– – Fixierung . . . 164
– – Gläserreinigung . 37
– – Lichtfilterherstellung 24
– für Lipochromnachweis 617
– bei Pigmenttrennung 617i, 618
– zur Reinigung von gebr. Toluol . . . 302
Schwefelsäure-Kaliumbichromat (Gläserreinigung) 37
Schwefelsäure-Pikrinsäure 617
Schweflige Säure zum Entkalken 850
Schweineembryonen 1491
Seeigel 1226
Seestern 1226
Sehne 758, 813
Sehne-Muskel . . 918ff.
Sehorgan. . . .1342—1358
Sehpurpur 1375
Seifen, Nachweis . . 584
Sekretkapillaren . 1126, 1163
Selbstinjektion der Gallenkapillaren .1183
Senkverfahren . . . 212
Sensible Nervenendigungen . .1041—1061
– –, Darstellung durch Färbung (vitale Methylenblaufärbung) 1043ff.
– –, – – Vergolden .1049

§§
Sensible Nervenendigungen, Darstellung durch Versilbern .1037
– –, – nach Bethe. .1046
– –, – – Bielschowsky 1037
– –, – – Boecke . .1039
– –, – – Ehrlich . .1043
– –, – – Gad . . .1061
– –, – – Golgi . . .1054
– –, – – Gros-Schultze 987
– –, – – Kreibich . .1048
– –, – – Kühne . .1051
– –, – – Loewit. . .1050
– –, – – Merton . .1060
– –, – – Michailow .1066
– –, – – Muschenkoff 1055
– –, – – Nabias. . .1059
– –, – – Ranvier . .1052
– –, – – O. Schultze. 992
– –, – – Sihler . . .1061
– –, – – Stöhr . . .1058
Serienschneiden 255, 266
Serienschnitte, Aufkleben ders. s. unter Aufkl.
Serum als Medium . 47
Serumalbumin für Eiweißglyzerin . . . 279
Sharpeysche Fasern. 878
Siebdosen (zum Wässern) 108
Sihlersche Methode .1061
Silbermethoden
– für Achsenzylinder 983 ff., 1037
– – Bindegewebe . 801 ff.
– – Binnenapparat . 557, 560, 960
– – Calciumnachweis 652
– – Cornea . . . . 1354 f.
– – Ganglienzellen 962—972
– – Glaskörperfibrillen 1347
– – Harnsäurenachweis 1223
– – Kalknachweis. . 859
– – Knochenkörperchen 864
– – Kochsalznachweis 1223
– – Nervenendigungen 1037
– – Neurofibrillen (zentral) . . . 983, 988
– – – (periphar) . . .1037
– – Neuroglia . . . 992
– – Ranviersche Kreuze 1031
– – Retina 1381
Silbermethoden
– nach Achúcarro . . 808
– – Agduhr 807, 931, 976
§§
Silbermethoden nach Bielschowsky 802 (Bdg.), 983 (Neurofibr.), 1037 (Neurofibr. Nervenendig.)
– – Björkenheim . . 559
– – Bocke 1039, 1341, 426
– – Cajal 557, 959, 960 (Binnenappar.) 967 (Gangl.z.) 988 (Neurof.) 1381 (Retina)
– – Cowdry 991
– – Deineka 864
– – Flinser 666
– – Golgi 560, 962, 965, 966
– – Gros 987
– – Hertwig 667
– – Kallius 972
– – Kato 990
– – Klarfeld 810
– – Kopsch 969
– – Kossa 652
– – Krause. 666
– – Lenhossek 958, 1347
– – Liesegang . . . 989
– – Ranke 809
– – Ranvier 664, 1031, 1354
– – Sand 1040
– – Schultze 668 (Zellgrenzen) 992 (Fibrillen)
Silbernitratgelatine .1071
Sklera 1361
Smith-Dietrichs Lipoid-Färbung . . . 592
Sodalösung (Sterilisieren) 71
Sommerzellen (Nebenniere) 1290
Spalteholz' Aufhellungsverfahren . . 494
Speicheldrüsen . .1151 ff.
Speichelkörperchen . 656
Speichelröhren . . .1165
Spektralokular . . . 22
Spermatogenese . .1258
Spermien . . . 1244 ff.
Spiegel am Mikroskop 4, 5
Spielmeyers Markscheidenfärbung. .1008
Spinalganglien . . . 935
Spindelfäden . . . 527 ff.
Spindelzellen (Blut) . 732
Spongioplasma (Blutzellen) 732
Stearin-Paraffin-Wachsgemisch . . 219
Stechapfelform der roten Blutkörperchen 679
Steinachsche Siebdosen 108
Stereoskopisches Mikroskop 21
Sterilisieren von Instrumenten 71
Sternzellen (Leber) .1193
§§
Stoehrsche Goldmethode 1057
Strassersche Klebemasse 1443
Stratum corneum .1297
– granulosum. . . .1300
– lucidum 1299
– spinosum. 1304
Streeters Markscheidenfärbung. 1003
Streichriemen. . . . 56
Strukturfarben . . 621 f.
Stückfärbung . . . 324 f.
Stückverdauung . . 780
Stützgewebe des Darmes 1145
Stufenmikrometer . . 31
Sublimat 173
–, Entfernung desselb. 175
Sublimatgemische
– Sublimatalkohol . 182
– – nach Schaudinn. 443
– Sublimat-Chromsäure-Eisessig . 1456, 1466
– Sublimat-Formol . 181
– Sublimat-Eisessig . 183
– Sublimat-Kochsalzlösung 173, 179
– Sublimatrohrzucker 180
– Sublimat-Salpetersäure 1343
– Sublimat-Salpetersäure-Eisessig-Alkohol 187
– Sublimat-Trichloressigsäure-Formol . 194
– Sublimat-Trichloressigsäure-Formol-Eisessig . . . 192, 193
Substantive Färbung 321
Subtrie 192
Succedane Färbung . 408
Sudan III . . 459, 575 ff.
Sudan III-Resorcinfuchsin 817
Sulfalizarinsaures Natron (Benda, Neuroglia) 1019
– – (Benda Plastosomen). 550
– –, Vitalfärbung . . 460
Susa. 193
Sympathische Ganglien 987
Szent-Györgyis Fixierungsgemisch . . .1345
Szüts Hämatoxylinlösung 367

T.

Taenzer-Unnas Orcein 818
Tandlers kaltflüssige Gelatinemasse . .1119

§§
Tanninlösung zur Fixierung von Anilinfärbung 383
Tannin-Giemsalösung 1319
Tannin-Hämatoxylin-Safranin 526
Tannin-polychromes Methylenblau (Markscheiden) 1007
– – – (Schilddrüse) 1262
Tannin-Osmiumsäure 673
Tannin-Silbermethode nach Achuccaro . 808
– – – Ranke 809
– – – Klarfeld . . . 810
Tasthaare 1324
Tastscheiben 1341
Teerfarben 373
Tellyeniczkys Gemisch 133
TENfärbung (Salkind) 449
Temperatur bei Gewebekultur . . . 85
Temperatureinfluß bei Fixierung . . 99, 100
Termini technici . . 510
Terpentinöl. . . 214, 199
– für Celloidinpräparate 293
– zum Einschluß . . 491
– – Entwässern unaufgeklebter gefärbter Schnitte 303
– als Intermedium . 214
– Ölcelloidin 236
– Ölgelatine 240
Terpentinöl-Berlinerblau 1094
Terpentinöl-Kanadabalsam. 479
Tetrachlorkohlenstoff 206
Thermoregulator . . 282
Thermostat. 281
Thiazinrot-Thionin . 910
Thionin für Ganglienzellfärbung 951
– – Kernfärbung . . 399
– – Schleimfärbung .1136
– – – nach Metzner. 400
Thioninfärbung, Fixierung ders. . . 400, 401
Thionin-Phosphorwolframsäure (Knochenfibrillen) . . 862b
Thionin-Pikrinsäure (Knochenkörperchen) 862a
Thionin-Weinsteinsäure (n. P. Mayer) 951
Thoma-Zeißscher Blutkörperchen-Zählapparat 756
Thrombocyten . . 689f.
Thymen 376, 384
Thymus . . . . .1273ff.
Thyreoidea . . .1262ff.
§§
Tigroidsubstanz . . 945ff.
Tirmann u. Schmelzers Eisenreaktion . . 644
Töten der Tiere . . 42
Toluidinblau 399
– (Knorpelfärbung) . 828
Toluidinblau-Brillantschwarz-Safranin . 911
– Fixierung der Färbung 400, 401
– für Nißl-Substanz 946ff.
– Eisenalaun 400
– Erythrosin-Naphtholgelb 449
– Orange-Eosin . . 440
– Safranin 1285
– Säurefuchsin-Aurantia 556
– sulfalizarinsaures Natron 1019
Toluol . . 199, 206, 208
–, Reinigung dess.. . 302
Toluylendiaminvergiftung 1190
Tonsille 1118
Totalpräparat von Embryonen . . 1469f.
Trachea . . . . 1198ff.
Tränendrüse 1385
Tragzeiten . . . 1475ff.
Trainas Bindegewebsfärbung 794
Triacidfärbung nach Ehrlich-Biondi (für Schnitte) . . . 436ff.
– – – für Blutausstriche 729
–, Mod. nach Pappenheim 730
Tricalciumphosphat . 851
Trichloressigsäure z. Entkalken 853
– zum Fixieren . . . 191
– Kaliumbichromat-Uranylacetat . . .1372
– Sublimat-Formol . 194
– Sublimat-Formol-Eisessig . . . 192, 193
– Uranylacetat . . . 195
Trichlormilchsäure . 604
Triglyzeringemisch . 725
Trioxychromfärbung .1320
Trockenpräparate 692ff.
Trockensystem . . . 14
Tropfen, hängender . 61
Trophospongien . . . 565
Trypanblau . . 465, 469
Trypsinverdauung 771ff.
Tube 1237
–, Veränderung in der Brunstperiode . .1475
–, Behandlung bei Untersuchung junger Entwicklungsstadien 1483
§§
Tubus des Mikroskops 4, 9
Turnbullsblaureaktion 644
Tusche (Beschriften v. Glas) 269
– für Injektion . . 1089f.
– (Sternzellen der Leber) 1193

U.

Überfärbung . . 346, 347
Überlebendes Präparat 45
Überosmiumsäure s. Osmiumsäure.
Umrandung . . . 478ff.
Umrandungsmassen 479ff.
Unnas Cytose . . . 954
– Elastinfärbung . . 818
– Epithelfaserfärbung 674
– Keratohyalindarstellung 1300
– Methylgrün-Pyroninfärbung 434
– Neutralviolettfärbung 615
– Plasmazellenfärbg. 744
– Polychrome Methylenblaufärbung . . 744
– Reduktionsorte der Zellen 613
– Rongalitweißmethode 612
– Sauerstofforte der Zellen 612
– saure Kerne . . . 526
– Wasserblau-Orcein-Eosinfärbung . . . 674
Unna-Ziehlsche Färbung 732
Unterchlorigsaures Natron . . 1093, 1439
Unterschwefligsaures Natron 176
Uransilbermethode Cajals 557
Uranylacetat 195
– Trichloressigsäure-Kaliumbichromat .1372
Ureter 1224
Uterus 1238
– bei Brunst 1475
– – Schwangerschaft 1482ff.
Uterusbindegewebe .1242

V.

Vagina. 1243
Vanadiumhämatoxylin 368
Van Gehuchtens Gemisch 118
Van Giesonsche Färbung . . . . 415ff.
Van Herwerdens Nucleasebehandlung 514, 954

§§

Vastarini-Cresis Markscheidenfärbung. .1004
Vasculosa 1362
Vater-Pacinische Körperchen 1338
Venetianische Seife . 946
Venetianisches Terpentin 59
Verband der Operationswunden . . . 44
Verdauungsmethoden 514, 771 ff., 1102 ff.
Verdauungsorgane 1114 ff.
Verdünnen des Alkohols 107
Vergoldungsmethoden s. auch Goldmethoden.
- für Bindegewebe . 811
- - Dentinfibrillen . 876
- - Hornhaut . . .1358
- - Knochenfibrillen 876
- - Myofibrillen . . 906
- - Nervenendigungen 1049 ff.
- - Neurofibrillen 979, 993, 1050—1060
Verjüngerung (Gewebekultur) . . . 81
Verkalkter Knorpel . 837
Verocays Bindegewebsfärbung 800
- Entfernung von Formolniederschlägen . 147
Versilberungsmethoden s. Silbermethoden.
Versteinerungsmethode 884
Vesuvin 756
Viktoriablau (Neuroglia) 1018
Vitalfärbung, Allgemeines . . . . . 450 f.
-, Doppelfärbung . . 467
-, Einfluß d. Lichtes 458
Vitalfärbung, Fixierung mit molybdänsaurem Ammonium .1045
-, - - pikrinsaurem Ammonium . . .1049
-, - - Sublimat. . . 466
Vitalfärbung mit Aurantia 466
- - Alizarin . . . 460 ff.
- - Bismarckbraun . 466
- - Brillantkresylblau 1049
- - Janusgrün . 463, 464
- - Karmin . . 468, 743
- - Krapp 460
- - Methylenblau . 453, 1043
- - Neutralrot . . 455 f.
- - Niblau 466
- - Pyrrolblau . . . 465

§§

Vitalfärbung mit Sudan III 459
- - sulfalizarinsaurem Natrium 460
- - Trypanblau 465, 469, 743
Vita propria 67
Vogeleier . . . 1457 ff.
-, Bebrütung . . 1457 f.
-, Fixierung . . 1463 ff.
-, Lagebestimmung .1462
Vogelhaut 1331
Vorvergoldung . . . 980

W.

Wachs für Deckglasumrahmung . . . 480
Wachsfüßchen . . . 59
Wachsmasse für Rekonstruktion . . . 506
Wachsmodellierapparat nach Berner . 507
- - Neumayer . . . 507
Wachspapierplatten . 505
Wachszusatz zum Paraffin 219
Wärmbarer Objekttisch. 85
Wärmeofen 221
Wärmetischchen . . 275
Wässerungsvorrichtungen 108
Wasser für Giemsalösung 710
Wasserblau-Acridinrot-Pikrinsäure . . . 794
Wasserblau-Orcein n. Unna 787
Wasserblau-Orcein-Eosin 786
Wasserblau-Orcein-Eosin-Hydrochinon 674
Wasserfreier Alkohol 202 ff.
Wasserimmersion . . 15
Wasserstoffsuperoxyd als Bleichmittel . . 630
- als Oxydationsmittel 356, 366
Weidenreichs Blutfixierung . . 699, 703
Weigerts Borax-Ferricyankaliumlösung für Markscheidenfärbung 994
- Celloidinaufklebemethode 292
- Chromogen-Ameisensäure 1012
- Eisenhämatoxylin für Kerne 362
- - - Markscheiden . 994
- Elastinfärbung . . 814
- Fibrinfärbung . . 746

§§

Weigerts Modifikation des van Giesonfärbung 362
- Kaliumbichromat-Fluorchrombeize . 994
- Lithion-Hämatoxylin für Markscheiden 996, 998
- Markscheidenfärbg. 994
- Neurogliabeize . . 994
- Neurogliafärbung .1012
- Resorcinfuchsin . 814
Weiße Blutzellen . 685, 703, 714 ff.
- Muskeln 915
Weiterbehandlung aufgeklebter Schnitte:
- Alkoholcelloidin . 310
- Celloidinparaffin . 311
- Gefrierschnitte . . 294
- Ölcelloidin 310
- Paraffin . . . 296 ff.
Weiterbehandlung unaufgeklebter Schnitte:
- Alkoholcelloidin 306 ff.
- Celloidinparaffin . 283
- Gefrierschnitte . . 312
- Ölcelloidin 308
- Paraffin . . . 303 ff.
Werzbergs Dampfgemisch 702
WEP-Färbung 532, 1320
Wiesels Nebennierenmethode . . . 1284 f.
Winkel zum Einbetten 226
Wintergrün[1] 494
Wittmaacks Methoden für das Gehörorgan 1391
Wolfrum Ölcelloidinmethode 237
Wolters Markscheidenfärbung 1002
Woronins Osmiumsäure-Tanninmethd. 673
Wundverband . . . 44
Wurzelscheiden der Haare 1326

X.

Xylol . . 199, 206, 296
Xylolaceton . . 378, 445
Xylol-Karbolsäure . 303
Xylol-Kolophonium . 946

Z.

Zählapparat für Blutkörperchen 756
Zähne . . . 872 ff., 884 ff.
Zedernholzöl 199
- in Apathys Ölgemisch 236
- zur Aufhellung. .1470
- bei Celloidineinbettung 237

§§

Zedernholzöl für Einbettung in Paraffin 214, 215
- als Einschlußmittel 491
- für Immersion . . 14
- als Intermedium 214, 215
Zeichenapparat nach Abbe 26
- - Edinger 27
Zeichnen für Rekonstruktion 504
Zeitdauer der Paraffindurchtränkung . 224
Zellbrückendarstellung 671 ff.
Zelle, Untersuchung ders.. . . . . 510 ff.
Zellgranula Altmanns 555
- acidophil . . . . 725 ff.

§§

Zellgranula basophil 726, 728
- neutrophil 729
Zellkern, Untersuchung dess. . 511 ff.
Zellgrenzen, Darstellung durch Versilbern . . . . . 664 ff.
Zelloidin s. Celloidin.
Zellteilung 515
Zement (Zahn) . . . 877
Zenkers Fixierungsgemisch 184
- -, Modif. von Held 101
- -, - - Helly . . . 185
- -, - - Kolmer . .1372
- -, - - Maximow . 186
Zentralblende . . . 17
Zentralnervensystem s. Nervensystem.

§§

Zentrifuge 663
Zentrosom 527
Zettnowsche Flüssigkeit 37
Zieglers Entkalkungsmethode 850
Zieglwallners Glykogenfixierung . . . 604
- Glykogen-Fettfixierung 604
Zirbeldrüse . . 1269 ff.
Zitronensaft-Goldchloridmethode . .1052
Zonula Zinnii. . . .1356
Zotten 1133
Zunge 1115
Zupfpräparate . . . 54
Zusatzflüssigkeiten 46 ff.
Zwischenflüssigkeiten 199

Druckfehlerberichtigung.

§ 367	Scüls	statt	Scüts
§ 607	807	«	777
§ 94	Falb	«	Falk
§ 992	Schulze	«	Schultze (2 mal)
§ 959	inferno	«	interno
§ 1007	Karminlösung	«	Tanninlösung (2 mal).

Optisch-mechanische Werkstatt

E. Hartnack

Potsdam V

empfiehlt

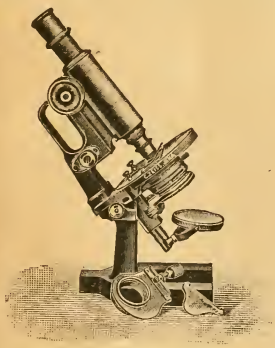
ihre ***anerkannt*** *vorzüglichen* ***Mikroskope*** *für alle wissenschaftlichen Zwecke, ferner einzelne* ***Objektive, Präparier-Mikroskope, achromatische Lupen*** *mit* ***vollständig planem*** *Gesichtsfeld, Apparate zur Polarisation, zum Nachzeichnen mikroskopischer Präparate, mikrophotographische Apparate.*

Preislisten gratis und franko. (4)

NICOLAUS BUCHNER

Universitäts-Optiker

Frauenplatz 10 **MÜNCHEN** Frauenplatz 10



Spezial-Institut für wissenschaftliche Optik

General-Vertretung der Firmen:

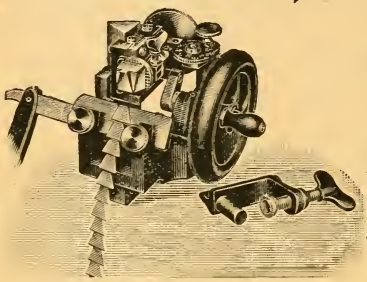
Carl Zeiß, Jena

R. Winkel, Göttingen

Präcisions - Augengläser

E. ZIMMERMANN

Stammhaus: LEIPZIG Roscherstr. 23



Kleines Mikrotom
nach Minot. (Abb. obenstehend)
für Paraffin und Gefrierschnitte

Geschäftsstelle:
BERLIN W. Pariser-straße 15

Gegründet 1887

Automatische
Mikrotome
nach Minot

Sorgfältigste Ausführung

(2)

Preisliste kostenlos!

W. Walb Nachfolger
Heidelberg

(3)

Spezialfabrik für
Mikrotom-Messer

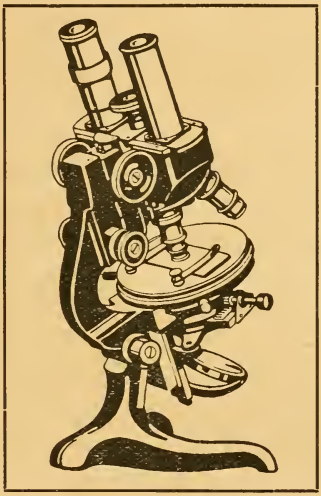
Feinste Scheren, Pinzetten, Nadeln etc. in Stahl, Nickel und Platin · Alle Artikel zur Mikroskopie · Man verlange Spezialkatalog Schleifen von Messer jeder Form und Größe

Ernst Leitz, Wetzlar

Gegründet 1849 — Optische Werke — Gegründet 1849

Vertretung für München:

Dr. A. Schwalm, München, Sonnenstraße 10



Mikroskope

(7)

für monokularen u. binokularen Gebrauch

(über 185000 im Gebrauch)

Mikrotome

Mikrophotograph. und Projektionsapparate

Man verlange Druckschrift: „Mikro 232“

Verlag von R. Oldenbourg, München-Berlin

Das Problem der Lebensdauer und seine Beziehungen zu Wachstum und Ernährung

von

Dr. MAX RUBNER

o. ö. Professor an der Universität zu Berlin und Direktor der hygienischen Institute

VIII u. 208 Seiten gr. 8°. Preis geheftet M. 5.—; dazu kommen 40% Verlags- und 10% Sortiments-Teuerungszuschlag

Kritik der Methodik der Wassermannschen Reaktion und neue Vorschläge für die quantitative Messung der Komplementbindung

Von

Dr. J. KAUP

Professor am Hygienischen Institut der Universität München

175 Seiten gr. 8°. Mit 7 Abbildungen
Preis geh. M. 5.—; dazu 10% Verlags- u. 10% Sortiments-Teuerungszuschlag

Zu beziehen durch jede Buchhandlung